

DER EINFLUSS DER INTERMITTIERENDEN SEQUENTIELLEN
KOMPRESSION UND PENTOSAN-POLYSULFAT AUF DIE
FIBRINOLYTISCHE AKTIVITÄT DES BLUTES

ULRIKE WÖBBEKG



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554620_0014

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

DIREKTOR: PROF. DR. N. ZÖLLNER

DER EINFLUSS DER INTERMITTIERENDEN SEQUENTIELLEN
KOMPRESSION UND PENTOSAN-POLYSULFAT AUF DIE
FIBRINOLYTISCHE AKTIVITÄT DES BLUTES

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN
AN DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT
ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON
ULRIKE WÖBBEKG
AUS
MÜNCHEN

JAHR
1985

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. N. Goossens

Mitberichterstatter : Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan : Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14.11.1985

Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. THEORETISCHER TEIL	1
1. Einleitung	1
2. Fibrinolyse	2
3. Mechanismus der Fibrinolyse	3
3.1 Plasminogen	5
3.2 Plasmin	6
3.3 Fibrin und Fibrinogen	7
4. Regulation der Fibrinolyse	9
4.1 Aktivatoren der Fibrinolyse	9
4.1.1 Gewebeaktivatoren	9
4.1.2 Blutaktivatoren	11
4.1.3 Therapeutisch induzierte Fibrinolyse	13
4.1.4 Mechanische Aktivierung der Fibrinolyse	17
4.2 Inhibitoren der Fibrinolyse	18
B. EXPERIMENTELLER TEIL	21
1. Versuchsplan und Patientenauswahl	21
2. Intermittierende sequentielle Kompression	25
2.1 Verwendete Materialien und Geräte	25
2.2 Prinzip und Durchführung	25
3. Bestimmung der Plasminogenkonzentration	27
3.1 Verwendete Materialien und Geräte	27
3.2 Prinzip und Durchführung	27

	Seite
4. Bestimmung der Euglobulinlysezeit	35
4.1 Verwendete Materialien und Geräte	35
4.2 Prinzip und Durchführung	35
4.3 Auswertung der Meßergebnisse	37
5. Ergebnisse und Diskussion	44
5.1 Ergebnisse	44
5.2 Diskussion	45
6. Untersuchung von SP 54	49
6.1 Wirkungsmechanismus von SP 54	49
6.2 Versuchsplan und Patientenauswahl	51
6.3 Fibrin-Differenz-Methode mit Biuret	54
6.3.1 Verwendete Materialien und Geräte	54
6.3.2 Prinzip und Durchführung	54
6.3.3 Auswertung und Berechnung	56
6.4 Ergebnisse	63
6.5 Diskussion	64
ZUSAMMENFASSUNG	67
C. LITERATURVERZEICHNIS	69

A. THEORETISCHER TEIL =====

1. Einleitung

Das Phänomen der Fibrinolyse ist seit langer Zeit bekannt. Man versteht darunter die Wiederauflösung von Fibringerinnseln durch die Protease Plasmin. Denis gab im Jahre 1838 erstmals einen Hinweis auf die fibrinolytische Aktivität des Blutes. Ungefähr fünfzig Jahre später, im Jahr 1883, untersuchte Dastre Blut von Hunden, das durch Aderlaß gewonnen worden war, und stellte dabei fest, daß es sich in vitro wieder verflüssigte (13). Er bezeichnete die Fähigkeit des Blutes, Gerinnsel wieder aufzulösen, erstmals als Fibrinolyse.

Tillet und Garner beobachteten 1933 (53) in Filtraten β -hämolyasierender Streptokokken die Auflösung von Fibringerinnseln. Wenig später konnte der Beweis erbracht werden, daß diese Auflösung durch die lytische Aktivität des aus den Streptokokken gewonnenen Produkts zustande kommt. Man nannte das Produkt Streptokinase, und Müllertz und Steiner entdeckten 1953, daß Streptokinase Plasminogen zu Plasmin aktivieren kann, wobei eine weitgehende Spezifität für menschliches Plasminogen besteht. Streptokinase wirkt anders als körpereigene Aktivatoren, nämlich über einen 2-Phasen-Weg. Sie bildet dabei zunächst einen Komplex mit Plasminogen, der dann wiederum Plasminogen zu Plasmin aktiviert (58). Heimbürger und Schwick bezeichneten 1962 diesen Streptokinase-Plasminogen-Komplex als Proaktivator-Plasminogen, wobei nur der Teil des Plasminogens gemeint ist, der sich mit Streptokinase verbindet. Tillet konnte 1955 erstmals Patienten mit hochgereinigter Streptokinase i.v. behandeln.

2. Fibrinolyse

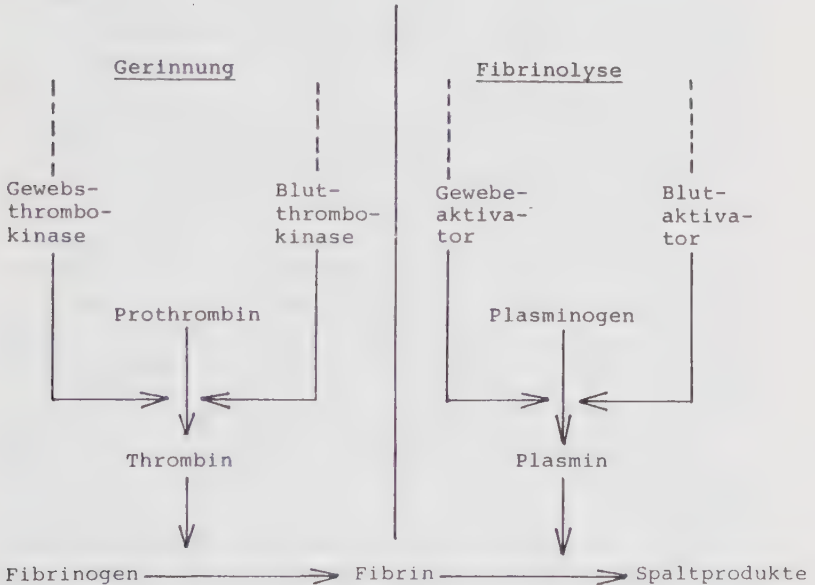
Als Fibrinolyse bezeichnet man die Auflösung von Fibringerinnseln in vivo und in vitro. Man nimmt heute an, daß im Körper ständig eine gewisse Menge Fibrinogen in Fibrin umgewandelt wird. Im funktionellen Gleichgewicht hält jedoch dieser Fibrinbildung ein ebenfalls ständig ablaufender, fast spiegelbildlicher Vorgang die Waage, der abgelagertes Fibrin entfernt und so die Gefäße gegen Thrombosierung schützt. Kommt es also doch zu einer Thrombosierung, scheint es sich dabei dann um ein kurzfristiges Versagen der physiologischen Fibrinolyse zu handeln, wobei aber prinzipiell gebildete Gerinnselmassen wieder aufgelöst werden können (18).

Auch außerhalb des Gefäßsystems findet sich in einigen Organen wie zum Beispiel Lunge, Herz, Niere, Prostata hohe fibrinolytische Aktivität (4); außerdem in Körpersekreten wie Muttermilch, Urin, Samenflüssigkeit und Speichel, die hier sicherlich dafür sorgen soll, daß zu- und abführende Gefäßsysteme nicht durch Fibringerinnsel verschlossen werden.

Ebenso kann man bei der Wundheilung, entzündlichen Prozessen und nach Traumatisierung in den betroffenen Geweben eine erhöhte Fibrinolyse feststellen, da unter diesen pathologischen Umständen Fibringerinnsel entstehen können. Als Gegenregulation zu dieser Fibrinbildung wirkt aber nicht nur die Lyse der Gerinnsel allein, sondern auch die Freisetzung von Fibrinabbauprodukten, die selbst sehr wirksame Inhibitoren der Gerinnung sind.

3. Mechanismus der Fibrinolyse

Die Fibrinolyse stellt also das Gegenstück zur Blutgerinnung dar: Sie zerstört Fibrin, die Blutgerinnung erzeugt es.



Obwohl sie völlig gegensätzliche Funktionen innehaben, ähneln sich die Mechanismen der beiden doch sehr. In beiden stehen am Ende proteolytische Fermente, das Thrombin bzw. das Plasmin. Thrombin spaltet vom Fibrinogenmolekül das Fibrinopeptid ab, Plasmin spaltet Fibrin in kleinere Polypeptide. Beide proteolytischen Fermente entstehen aus inaktiven Vorstufen, Prothrombin bzw. Plasminogen, wobei die Umwandlung dieser inaktiven Vorstufen sowohl bei der Gerinnung als auch bei der Fibrinolyse mittels Gewe-

webe- oder Blutaktivatoren erfolgen kann (28). Es ist anzunehmen, daß auch die Aktivatoren aus inaktiven Vorstufen (Proaktivatoren) entstehen.

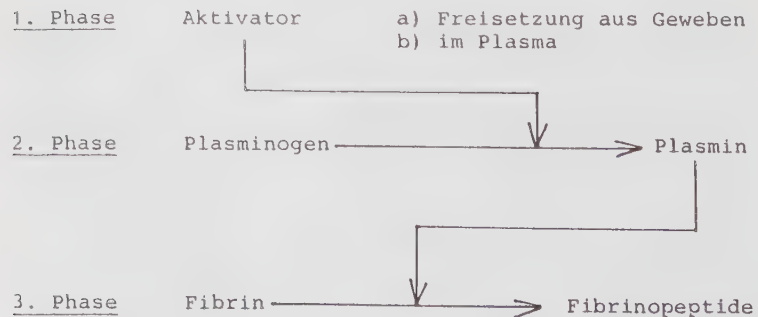
Außer den Aktivatoren der Fibrinolyse finden sich im Organismus jedoch auch Inhibitoren, die gegen Plasmin oder seinen Aktivator gerichtet sind. Neben diesen natürlichen Inhibitoren gibt es erworbene wie die Antistreptokinase, die durch immunologische Vorgänge entstanden ist.

Die Fibrinolyse ist eine Reaktionskette, die in drei Phasen abläuft und deren Ziel es ist, unlösliches Fibrin in lösliche Polypeptide aufzuspalten (41).

1. Phase: Sie beinhaltet die Freisetzung eines Plasminogenaktivators entweder aus dem Gewebe (Harnwegsepithel Urokinase, Uterusschleimhaut) oder im Plasma, wahrscheinlich durch Reaktion eines Proaktivators mit verschiedenen Lysokinasen.

2. Phase: Bildung von Plasmin aus Plasminogen über einen Aktivator.

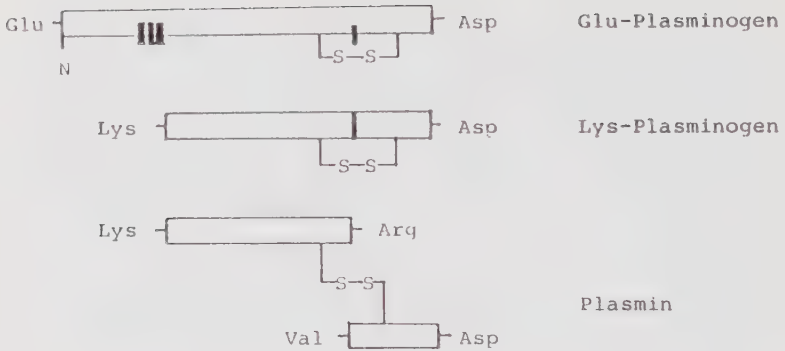
3. Phase: Lyse des Fibrins in Fibrinopeptide, die selbst gerinnungshemmend wirken.



3.1 Plasminogen

Plasminogen (Plg) ist ein Protein, das elektrophoretisch wandert wie ein β_2 -Globulin. Es enthält zu ca. 5 % Hexosen, 2,8 % Hexosamin und 0,6 % Neuraminsäure. Hexosen und Hexosamin sind für die Funktion ausschlaggebend. Es hat ein Molekulargewicht von 91000 - 94000 (8) und eine Plasmakonzentration von 10 - 15 mg/dl, in geringeren Konzentrationen ist es auch in Körperflüssigkeiten und Drüsensekreten vorhanden (48).

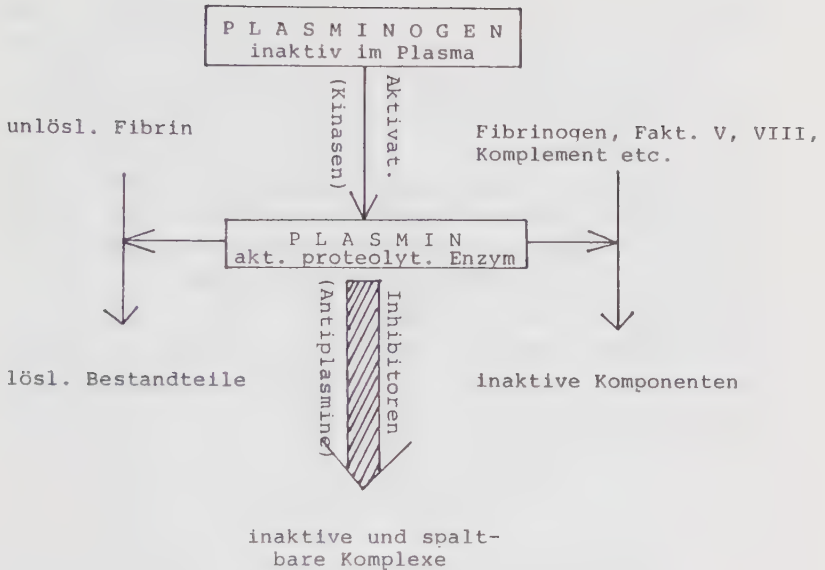
Plg kursiert im Körper in zwei verschiedenen Formen: zum einen als Glutamin-Plasminogen (Glu-Plg), mit Glutaminsäure am N-terminalen Ende, zum andern als Lysin-Plasminogen (Lys-Plg), mit Lysin am N-terminalen Ende (48), wobei Lys-Plg die aktivere Form des Plasminogen darstellt. Die Umwandlung des Glu-Plg zum Lys-Plg ist durch verschiedene Aktivatoren wie Gewebe- und Blutkinasen, Urokinase, Streptokinase und Staphylokinase möglich und scheint bei allen körpereigenen Aktivatoren über den gleichen Mechanismus zu erfolgen: Aus Glu-Plg entsteht über die Abspaltung von Peptidstücken und Konformationsänderung ein intermediäres Lys-Plg (50). Es erfolgt dann die Lösung einer weiteren Peptidbindung zwischen einem Valin- und einem Argininrest. Dabei entstehen aus der einen Peptidkette des Zwischenprodukts zwei Peptidketten. Diese beiden Peptidketten sind durch eine Disulfid-Brücke miteinander verbunden, die für die enzymatische Aktivität des Plasmins verantwortlich ist. Wird sie gespalten, geht die lytische Wirkung des Plasmins verloren. Die primäre Umwandlung von Glu-Plg zu Lys-Plg scheint von großer Bedeutung zu sein. Zum einen besitzt Lys-Plg größere Affinität zu Fibrin, zum andern wird es durch Urokinase schneller aktiviert als Glu-Plg (54, 57).



3.2 Plasmin

Plasmin entsteht aus Plasminogen und ist ein proteolytisches Enzym. Es handelt sich dabei um eine Endopeptidase mit einem Molekulargewicht von 105 000 - 125 000, seine Hauptfunktion ist die Proteolyse von Fibrin in Spaltprodukte, wobei es aber nicht substratspezifisch ist (3), sondern auch die Gerinnungsfaktoren V, III, VIII und andere Proteine spaltet. Die Gerinnungsfaktoren werden zu Beginn jedoch kurzfristig aktiviert. Prothrombin und Serumkomplement werden kaum inaktiviert, die Faktoren VII, IX, X sowie die Thrombocyten bleiben unbeeinflusst (23).

Tritt der Fall ein, daß Plasmin außerhalb von Fibringerinnseln entsteht, so wird es durch Inhibitoren weitgehend neutralisiert und so eine generalisierte Fibrinolyse verhindert.



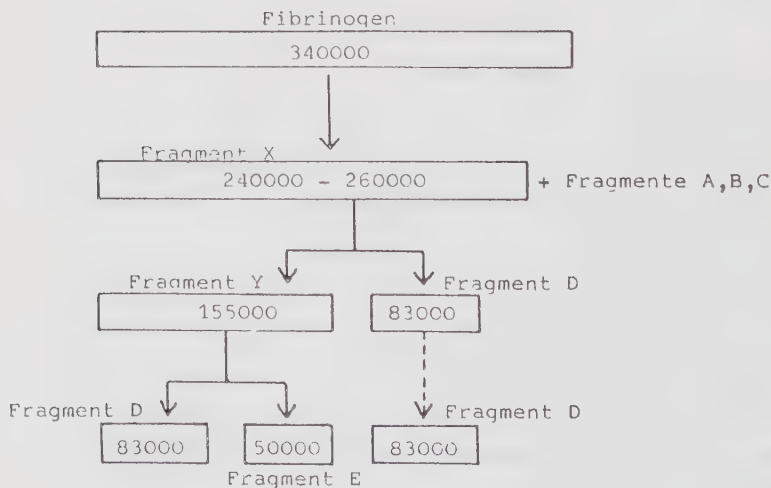
3.3 Fibrin und Fibrinogen

Fibrin entsteht bei der Gerinnung durch die enzymatische Wirkung von Thrombin auf Fibrinogen. Bei der Fibrinolyse wird dieses Fibrinogen durch das Enzymprotein Plasmin wieder gespalten.

Die Spaltung des Fibrinogens geht dabei folgendermaßen vonstatten (33):

Aus Fibrinogen entstehen zunächst das Fragment X und die niedermolekularen Peptide A, B, C. Fragment X hat ein Molekulargewicht von 240.000 - 260.000. Fragment X wird gespalten in die Fragmente D und Y, die ein Molekulargewicht von ca. 83.000 bzw. 155.000 haben. Fragment D

bleibt dann unverändert, während Y noch einmal in D (Mol.Gew. 83.000) und E (Mol.Gew. 50.000) gespalten wird. Nach Marder und Budzynski (34) enthält Fibrinogen außerdem noch A α -, B β - und γ -Ketten, die in kleinen Schritten ebenfalls noch abgebaut werden. So treten zum Beispiel erst in den Fragmenten D und Y abgebaute γ -Ketten auf, wobei Fragment D weitgehend abgebaute A α - und teilweise abgebaute B β -Ketten enthält. Fragment E enthält alle drei Ketten in abgebauter Form, die Restprodukte sind durch Disulfid-Brücken verbunden. Besonders reich an Disulfid-Brücken ist Fragment E. Fragmente, bei denen nur abgebaute A α -Ketten vorliegen, sind noch zur Gerinnsel-Bildung fähig, wohingegen dies bei Fragmenten mit bereits teilweise abgebauten B β - und γ -Ketten nicht mehr möglich ist (58).



4. Regulation der Fibrinolyse

Die Regulation der Fibrinolyse unterliegt genauen Gesetzmäßigkeiten, wobei fein aufeinander abgestimmte Schritte ineinandergreifen. Blutgerinnung und Fibrinolyse befinden sich im Gleichgewicht, so daß unter physiologischen Bedingungen Abweichungen der einen Seite sofort mit Gegenregulation auf der anderen Seite beantwortet werden. Die Bildung und Auflösung von Fibrin halten sich die Waage, Aktivator- und Inhibitorsysteme sorgen für die Aufrechterhaltung des homöostatischen Gleichgewichts. Aktivatoren und Inhibitoren sollen im folgenden besprochen werden.

4.1 Aktivatoren der Fibrinolyse

Im menschlichen Organismus sind physiologische Aktivatoren weit verbreitet. Sie gewährleisten, daß im Falle einer Entstehung von Gerinnseln diese baldmöglichst sowohl aus Geweben als auch Gefäßen wieder entfernt werden. Man unterscheidet dabei Blut- und Gewebeaktivatoren (12).

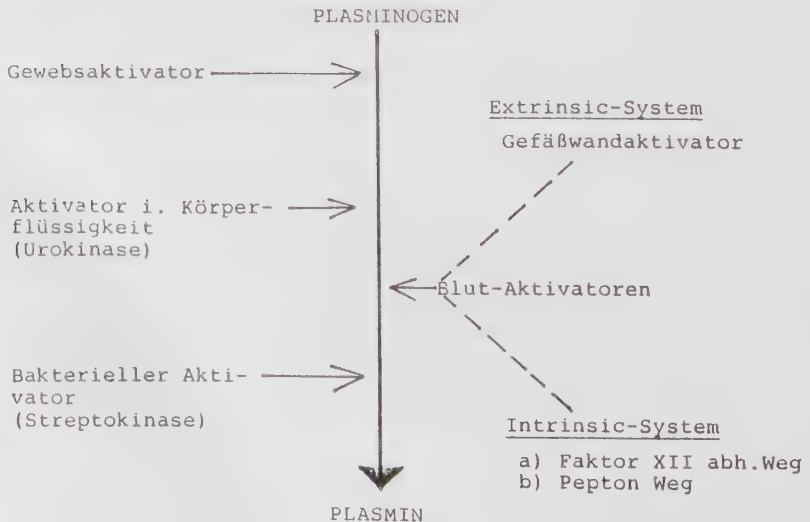
4.1.1 Gewebeaktivatoren

Hohe Aktivatoraktivitäten werden in verschiedenen Geweben wie zum Beispiel Nebennieren, Uterus, Prostata, Herz, Lunge, Ovarien und Nieren gefunden (2). Auch Erythrocyten, Leukocyten und Thrombocyten enthalten geringe Aktivatoraktivität, wobei die Leber frei davon ist (58). Dieser Gewebsaktivator ist relativ stabil und

hat ein Molekulargewicht von ca. 40.000. Er ist an zelluläre Proteine gebunden und verantwortlich für Wundheilung und Wiederherstellung von Gewebsverletzungen (12).

Auch in verschiedenen Körperflüssigkeiten wie Urin, Samen- und Tränenflüssigkeit, Speichel, Sperma und Fruchtwasser sind erhöhte Aktivator-Aktivitäten enthalten, deren wichtigste die Urokinase ist (58).

Urokinase ist ein β -Globulin, besteht aus einer Polypeptidkette und hat ein Molekulargewicht von ca. 54.000 (29). Sie scheint aktiv von der Niere sezerniert zu werden und kann aus Zellkulturen menschlicher embryonaler Nierenzellen gewonnen werden. Aufgrund ihrer Aktivator-Aktivität wird Urokinase zu therapeutischen Zwecken als fibrinolytische Substanz eingesetzt, sie wird dabei spezifisch an α -Globuline gebunden. Der Komplex aus Urokinase und Protein verliert seine Aktivator-Aktivität nicht, dem Protein wird eine Carrier-Funktion zugesprochen (58). Der genaue Ablauf der Aktivierung durch Urokinase wurde bereits beim Mechanismus der Fibrinolyse besprochen.



4.1.2 Blutaktivatoren

Die Aktivierung der Fibrinolyse über die Blutaktivatoren erfolgt über zwei verschiedene Systeme: ein extrinsisches und ein intrinsisches System.

a) Extrinsisches System:

Im menschlichen Blut existiert ein extrinsischer Aktivator mit einem Molekulargewicht von ca. 65.000. Er wird ständig in kleinen Mengen von den Endothelzellen produziert. Besonders in der Venenintima und -media, außerdem in den vasa vasorum der großen Venen und Arterien findet sich fibrinolytische Aktivität (6). Es scheint, daß dieser Aktivator dort nicht nur produziert, sondern auch gespeichert wird. Junge Endothelzellen enthalten wohl mehr Aktivator-Aktivität als ältere und seine zelluläre Produktion hängt mit der Ausdifferenzierung und dem Wachstum der Zellen zusammen (12). Die Produktion des Aktivators ist unter bestimmten Bedingungen wie seelischer Streß, Angst, schwere Muskularbeit, Schock und venösem Verschuß gesteigert (14). Auch nach Adrenalin-Gaben zeigt sich eine gesteigerte Aktivität.

Der Mechanismus, durch den dieser Gefäßwandaktivator ans Blut abgegeben wird, ist noch ungeklärt. Einige Autoren sprechen von einer wichtigen Rolle der Katecholamine (7), andere von einem vom Hypothalamus gesteuerten Kontrollmechanismus, er unterliegt also höchstwahrscheinlich der humoralen Steuerung (12).

β) Intrinsisches System:

Außer dem extrinsischen System existiert im Plasma noch ein zweites System, das intrinsische. Hier erfolgt die Aktivierung des Plasminogens zum Plasmin über den Fak-

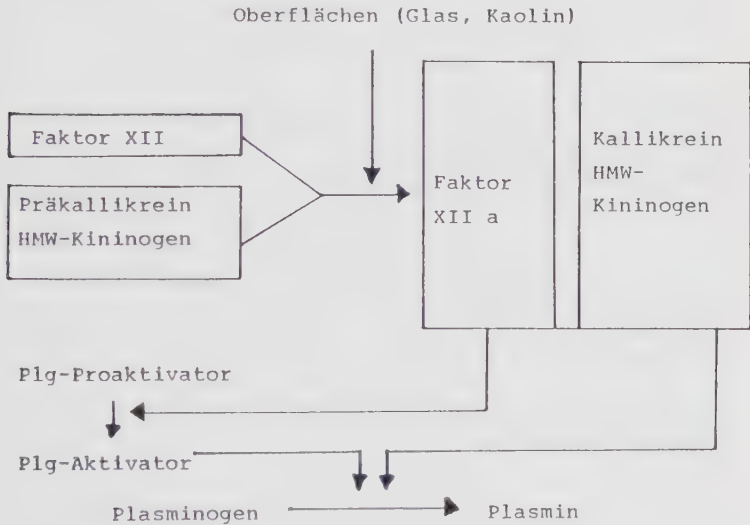
tor XII bzw. seine aktive Form XII_a, auch als Hageman-Faktor bezeichnet. Dieser Faktor XII, der auch in der Blutgerinnung eine wichtige Rolle spielt, wird in der Leber synthetisiert und hat ein Molekulargewicht von 80.000 (38).

Der Hagemann-Faktor-abhängige Reaktionsweg beginnt mit der Bindung dieses Faktors und einem Komplex aus Präkallikrein und HMW (High-molekular-weight) - Kininogen (MW 280.000) an negativ geladene Oberflächen (51). In einer Folgereaktion wandelt der aktivierte Faktor XII Präkallikrein in Kallikrein um und Kallikrein wiederum aktiviert den Faktor XII. HMW-Kininogen ist ein Kofaktor dieser beiden Reaktionen (58) und sowohl Kallikrein als auch Kininogen sind für die genügende Aktivierung des Hageman-Faktors wichtig.

Das aktive Zentrum des Faktors XII entsteht über die Aktivierung durch Kallikrein und im folgenden wird der aktivierte Faktor XII in freie Faktor XII-Fragmente (MW 28.000), welche auch enzymatisch aktiv sind, gespalten. Der aktivierte Hageman-Faktor spaltet Präkallikrein, aus dem dann Kallikrein entsteht. Kallikrein besteht aus einer schweren Kette (MW 52.000), die über eine Disulfid-Brücke mit einer leichten Kette (MW 33.000 - 36.000) verbunden ist. Das aktive Zentrum befindet sich auf der leichten Kette (58).

Kallikrein beschleunigt die Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin. Der Faktor XI zirkuliert gebunden an HMW-Kininogen und wird in Gegenwart von HMW-Kininogen durch den aktivierten Hageman-Faktor selbst aktiviert. Der Komplex aus aktiviertem Faktor XI und HMW-Kininogen seinerseits aktiviert den Hageman-Faktor. Auf diese Weise scheint Faktor XI in präkallikreinfreiem Plasma die Aktivierung der fibrinolytischen Aktivität voranzutreiben (58).

Außer diesem Hageman-Faktor-abhängigen Reaktionsweg gibt es noch einen zweiten, den sogenannten Pepton-Weg. Dieser Pepton-Weg ist nur in Abwesenheit des Hageman-Faktors wirksam. Er kann durch verschiedene organische Säuren wie Fettsäuren, höhere Alkylphosphate, organische Phosphatverbindungen, anorganische Polyphosphate und saure Polysaccharide (z.B. Dextransulfat) aktiviert werden (38).



4.1.3 Therapeutisch induzierte Fibrinolyse

Die therapeutische Fibrinolyse hat seit der weitgehenden Reinigung der Streptokinasepräparate, die dann auch eine intravenöse Anwendung möglich machte, an Bedeutung gewonnen, besonders bei der Lyse von Thromben. Auch Urokinase, deren Aktivierungsmechanismus bereits be-

schrieben wurde, kommt hier zum Einsatz. Sie hat den Nachteil, daß ihre Herstellung sehr aufwendig und teuer ist, daher wird sie besonders im Falle hoher Antikörpertiter gegen Streptokinase verwendet. Urokinase selbst ruft kaum Antikörper-Reaktionen hervor. Streptokinase ist ein Stoffwechselprodukt β -hämolisierender Streptokokken und kann Plasminogen zu Plasmin aktivieren, wobei eine weitgehende Spezifität für menschliches Plasminogen besteht. Außer menschlichem Plasminogen wird nur noch solches von Affen, Katzen, Hunden und Kaninchen aktiviert (5).

Streptokinase hat eine Molekulargewicht von ca. 50.000 und wandert elektrophoretisch wie ein α_2 -Globulin. Das Molekül besteht aus einer Polypeptidkette, enthält außer Aminosäuren weder Kohlenhydrate noch Schwefel (47).

Im Gegensatz zu Urokinase spaltet Streptokinase keine Arginin- und Lysinester, ebensowenig Kasein. Sie scheint also keine Protease oder Esterase zu sein, muß demzufolge über einen anderen Weg in die Fibrinolyse eingreifen, der im folgenden beschrieben werden soll.

Streptokinase aktiviert Plasminogen indirekt über einen Proaktivator-Aktivator-Komplex. Plasminogen und Streptokinase verbinden sich dabei im Verhältnis 1:1 zum Proaktivator-Plasminogen-Streptokinasekomplex. Dieser Komplex kann die Umwandlung von Plasminogen (Plg) zu Plasmin katalysieren (5, 8). Bei der Reaktion von Streptokinase mit Plg scheint ein aktives Zentrum zu entstehen, das Plg innerhalb des Komplexes in Plasmin umwandelt (8). Außerdem konnte gezeigt werden, daß sich dieses aktive Zentrum am Plg-Anteil des Komplexes befindet (45). Der Streptokinase-Plg-Komplex kann im Gegensatz zu Streptokinase allein auch tierisches Plasminogen aktivieren (45).

Man nimmt an, daß bei der Komplexbildung mit Strepto-

kinase die Tertiärstruktur des Plg so verändert wird, daß aktive Zentren freigelegt werden, die dann die Arginin-Valin-Bindungen spalten können.

Schwick und Heimbürger kommen zu der Überzeugung, daß der Proaktivator-Plg-Streptokinase-Komplex Plasminogen nach demselben Mechanismus aktiviert wie Urokinase. Auch Plasmin vermag Streptokinase zu binden, allerdings unter Verlust seiner proteolytischen Aktivität. Es konnte gezeigt werden, daß in dem Bereich des Plasmin-Moleküls, der die fibrinolytische Aktivität verliert, neue Aktivator-Kapazität entsteht (47).

Außer mit Streptokinase und Urokinase kann die Fibrinolyse, wie bereits erwähnt, über den sogenannten Pepton-Weg durch verschiedene organische Säuren aktiviert werden, in dem wie bei der Behandlung mit Sk und Uk das intrinsische System beeinflußt wird.

In diese Gruppe gehören auch Heparin und die Heparinoide. Heparin wird häufig zur Thromboseprophylaxe bei bettlägerigen und immobilen Patienten verwendet. Es kommt im menschlichen und tierischen Organismus in verschiedenen Organen vor. Die höchste Konzentration findet man in der Lunge, Leber, im Muskel und im Darm. Man vermutet, daß Heparin sich in den Mastzellen befindet (58). Im Plasma kommt es nur in geringen Mengen vor.

Bei Heparin handelt es sich um ein Polysaccharid, aufgebaut aus D-Glucosamin-N-Schwefelsäure und Schwefelsäureestern der Glucuronsäure. Sein Molekulargewicht liegt zwischen 12.000 und 20.000 (58).

Heparin scheint über mehrere Mechanismen ins Gerinnungs- und Fibrinolyse-System einzugreifen, es hat eine beschleunigende Wirkung auf die Antithrombin-III-Aktivität, Hemmwirkung auf Gewebs- und Blutthromboplastin, und Faktor IX. Außerdem wird der Faktor V inaktiviert und Fibrinogen denaturiert.

Im menschlichen Organismus ist Heparin nur wirksam, wenn es parenteral gegeben wird, es wird zu 25 - 30 % über die Niere ausgeschieden, ein Teil im RES gespeichert oder an Erythrocyten adsorbiert, der Rest in der Leber durch Heparinase zerstört. Ausscheidung und Abbau gehen so schnell vor sich, daß nach ca. 4 - 6 Stunden kaum noch fibrinolytische Aktivität vorhanden ist (58).

Heparin wird in Dosen zu 3×5000 i.E. zur Thromboseprophylaxe als Antikoagulans verwendet. Heparin und die Heparinoide zeichnen sich durch unterschiedlich starke Wirkung auf das fibrinolytische System aus, die aber nicht abhängig ist von ihrer antikoagulatorischen Wirkung (19).

Der Einfluß von Heparin und den Heparinoiden auf die Freisetzung des Plasminogen-Aktivators war bereits Gegenstand umfangreicher Untersuchungen sowohl in vitro als auch in vivo (26, 32). Heparin steigert die Freisetzung des Gewebsaktivators dosisabhängig in einer Konzentration, die zwischen 0,05 und 1,0 IU/ml Perfusionsflüssigkeit liegt. Man stellte dies bei Untersuchungen am isolierten Schweineohr und der Rattenlunge fest. Dieselbe Wirkung haben Schwefel-Polyanionen einer Konzentration von 10 µg/ml (32). Durch höhere Konzentrationen läßt sich die Freisetzung jedoch nicht signifikant steigern. In vitro-Studien liefern sich widersprechende Ergebnisse über den Einfluß von Heparin auf das fibrinolytische System. Einige Autoren haben bewiesen, daß die Fibrinolyse durch Heparin gesteigert wird (32), andere sprechen von einem inhibitorischen Effekt des Heparin auf die Fibrinolyse (21, 25). Auch andere Pharmaka sind in der Lage, die Fibrinolyse zu verstärken, so zum Beispiel Steroide, Sulfonylharnstoffderivate, Nikotinsäure und viele mehr (17).

Schwick und Heimbürger vertreten die Ansicht, daß zumin-

dest ein Teil der untersuchten Substanzen über eine Ausschaltung der Plasmininhibitoren wirkt (47). Andere Autoren stellten einen Anstieg des Gefäßwandaktivators im Plasma und Venenwänden fest (16).

4.1.4 Mechanische Aktivierung der Fibrinolyse

Ein weiterer wirksamer Stimulus der fibrinolytischen Aktivität ist der venöse Verschuß (44, 9, 39).

Der Anstieg der fibrinolytischen Aktivität wurde zum Teil beschrieben als Freisetzung des Plasminogen-Aktivators aus der Intima oder Adventitia von Venen (9). Einige Autoren fanden einen Anstieg der Faktoren VIII und XII während des venösen Verschlusses und zeigten, daß die erhöhte lytische Aktivität nach Verschuß vom Lysokinasetyp ist und eng mit dem Hageman-Faktor zusammenhängt (22), über die tatsächliche Ursache der erhöhten Aktivität herrscht also noch keine völlige Klarheit.

Es wurde auch gezeigt, daß die fibrinolytische Aktivität in den Armen größer ist als in den Beinen (44, 39) und daß der Anstieg der Fibrinolyse nach Verschuß in den Beinen geringer ist als in den Armen (39). Auch ist der Anstieg bei Frauen stärker als bei Männern.

Diese Erfahrungen ausnützend, untersuchte man in den letzten Jahren mehr und mehr die Auswirkung der intermittierenden sequentiellen Kompression auf Venen und das fibrinolytische System (36, 40, 27). E. Mühe untersuchte bei 25 Patienten die Wirkung der sequentiellen Beinkompression und konnte zeigen, daß bei Drücken zwischen 90 und 100 mmHg die venöse Strömungsgeschwindigkeit des Bluts auf 366 % des Ausgangswertes ansteigt (36), die Thrombosehäufigkeit konnte stark gesenkt werden.

Knight et al. (27) fanden heraus, daß der Abfall der fibrinolytischen Aktivität, der sich normalerweise nach chirurgischen Eingriffen meist am 3. postoperativen Tag findet, durch die intermittierende Kompression zu verhindern ist. Er führte die Kompression an den Armen durch und konnte feststellen, daß sie zu einem Anstieg der fibrinolytischen Aktivität auf oder sogar über den praeoperativen Wert führt. Damit konnte die Häufigkeit der tiefen Beinvenenthrombose auf weniger als die Hälfte gesenkt werden. Es spielt dabei keine Rolle, ob die Kompression an Armen oder Beinen durchgeführt wird. Es scheint, daß durch die Massage der Venen es zu einem lokalen Anstieg des Plasminogen-Aktivators kommt, der dann an den Blutkreislauf abgegeben wird (27).

4.2 Inhibitoren der Fibrinolyse

Als Inhibitoren der Fibrinolyse stehen einmal physiologische, zum anderen synthetische zur Verfügung. Die physiologischen werden in zwei Gruppen unterteilt: auf der einen Seite die Antiplasmine, die aktives Plasmin hemmen, auf der anderen Seite die Antiaktivatoren, die verhindern, daß Plasminogen in Plasmin umgewandelt wird (43). Im Blut sind diese Antiproteasen gegen die verschiedenen proteolytischen Produkte nicht nur des fibrinolytischen Systems, sondern auch des Gerinnungs-, Komplement- und Kallikreinsystems gerichtet (12). Erhöhte Antiaktivator-Aktivitäten wurden unter verschiedenen Bedingungen festgestellt, wie Myocard-Infarkt, tiefe Beinvenenthrombose, in der postoperativen Phase und während der Schwangerschaft (31). Einige der bekannten Plasma-Inhibitoren wie das Antithrombin III und α_1 -Antitrypsin, die zugleich auch Antiplasmine sind, hem-

men Urokinase; möglicherweise tun andere Inhibitoren dies ebenfalls (43).

Tabelle 1: Inhibitoren (Antiproteasen) des menschlichen Blutes (12, 1, 37)

<u>Name</u>	<u>MG</u>
α_2 -Makroglobulin ⁺	725.000
Antithrombin III ⁺	62.000
α_2 -Plasmin-Inhibitor ⁺	60.000
Inter- α -Inhibitor	160.000
C ₁ -Inaktivator ⁺	105.000
α_1 -Antitrypsin ⁺	56.000

+ = Antiplasmin

Bei den Antiplasminen unterscheidet man zwei verschiedene Typen: die Sofort- und die Progressivinhibitoren, wobei die Wirkung der Sofortinhibitoren gleich, die der Progressivinhibitoren etwas verspätet einsetzt. Die Aktivität findet sich in drei verschiedenen Globulin-Fractionen (48): das α_1 -Antitrypsin, ein Progressivinhibitor (47), ein α_2 -Makroglobulin und Antithrombin III, die zu den Sofortinhibitoren zählen. Sie binden Plasmin reversibel und können es bei Kontakt mit Fibrin wieder abgeben, dienen also möglicherweise als Speicher für Plasmin. α_1 -Antitrypsin bindet Plasmin irreversibel, kann es also nicht wieder abgeben. In den letzten Jahren wurde ein weiterer Inhibitor entdeckt (10), ein sogenanntes Antiplasmin. Es zählt zu den Sofortinhibito-

ren, ist aber mit den obengenannten nicht identisch. Auch Thrombocyten enthalten Antiplasmin-Aktivität. Dieser Inhibitor ist in seiner Wirkungsweise noch nicht genügend untersucht, er wirkt aber wohl ähnlich wie die Sofortinhibitoren des Plasmas (48).

Aus anderen Geweben wie Pankreas und Parotis konnte ebenfalls ein Inhibitor vom Antiplasmintyp isoliert werden, der als Trasylol rein dargestellt ist (41).

Außer den physiologischen Inhibitoren müssen noch die synthetischen erwähnt werden. Dazu zählen Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA), Aminomethylcyclohexancarbonsäure (AMCHA) und Paraaminomethylbenzoesäure (PAMBA), die hauptsächlich über eine kompetetive Hemmung der Aktivatoren wirken. Für die Therapie mit Streptokinase ist noch wichtig, daß sie im Gegensatz zu Plasmin nicht von α_1 -Antitrypsin inhibiert wird (47). Man benötigt im Falle einer Überdosierung oder zu starken Lyse mit Streptokinase den kompetetiven Antagonisten Epsilon-Aminocaprönsäure.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

=====

1. Versuchsplan und Patientenauswahl

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob durch ISK, low-dose Heparin oder eine Kombination von ISK plus low-dose Heparin die Aktivierung des körpereigenen Fibrinolysesystems möglich sei.

2 Gruppen zu je 11 Versuchspersonen wurden untersucht: Es handelte sich dabei um Patienten der chirurgischen Poliklinik München, sie wurden über den genauen Ablauf des Versuchs aufgeklärt und erklärten sich bereit, daran teilzunehmen. Alter und Geschlecht blieben unberücksichtigt. Es wurde lediglich darauf geachtet, daß sich die Patienten in einem guten Allgemeinzustand befanden. Auch mußten etwaige Operationen oder traumatische Ereignisse länger als 5 Tage zurückliegen, um ihre Auswirkungen auf das Fibrinolysesystem möglichst gering zu halten.

Bei Gruppe 1 wurde an drei, nicht unbedingt folgenden Tagen die Kompression durchgeführt. Unmittelbar vor und nach Kompression wurde jeweils Blut entnommen.

Zur ISK wurden den Patienten aufblasbare Kunststoffmanschetten um beide Beine gelegt. In diese Manschetten wurde über Druckluftschläuche Luft eingepumpt oder abgelassen, so daß sich die Manschetten jeweils beginnend am Unterschenkel prall füllten oder entleerten. Auf diese Art und Weise wurde auf die Beine ein bestimmter Druck ausgeübt, der über das Steuergerät variiert werden konnte.

Die ISK wurde über 15 Minuten durchgeführt.

Bei Gruppe 2 der Versuchspersonen wurde ebenfalls an

drei, nicht unbedingt aufeinander folgenden Tagen morgens um 8.00 Uhr Blut entnommen. Darauf folgte eine Gabe von 5000 IE Heparin s.c. Nach 4 Stunden erfolgte die 2. Blutentnahme, anschließend wurde die Kompression durchgeführt. Dann wurde wie bei Gruppe 1 nach der Kompression noch einmal Blut entnommen.

Es wurde darauf geachtet, daß bei jedem Patienten an den drei entsprechenden Tagen möglichst um die gleiche Zeit die ISK durchgeführt und Blut entnommen wurde. Damit sollte erreicht werden, die intraindividuelle Streuung der fibrinolytischen Aktivität, die ja einer bestimmten Tagesrhythmik unterliegt (20) möglichst gering zu halten.

Von jeder Blutprobe, also sowohl vor als auch nach Heparin-gabe und sowohl vor als auch nach Kompression, führten wir die Euglobulinlysezeit und die Plasminogenbestimmung durch.

Tabelle 2 gibt eine genaue Aufstellung der beiden Probandengruppen wieder.

Tabelle 2 : Daten der Versuchspersonen, Gruppe 1

Pat.Nr. Name	Alter in Jahren	Geschlecht	Grunderkrankung	Zeitraum zw. Operation u. Verzicht in Tagen	Andere Erkrankungen	Lab. Werte
1 M.G.	20	männl.	Schultergelenkfraktur	5	Varizen	Bilrub: 5,5g/dl
2 Sch.R.	22	männl.	Weber-C-Fraktur	8	Alkoholabusus	GGT: 122 U/l Gs.Bil: 1,2mg
3 R.P.	21	männl.	Beckenfraktur	-	-	-
4 Sch.R.	20	weibl.	Beckenfraktur	-	-	-
5 M.G.	66	männl.	Tibiakopf- fraktur	22	Asthma bronchiale Lungenemphysem	-
6 V.K.	20	männl.	Tibiakopf- fraktur	8	Laryngektomie wegen Larynx-Ca., Hals-Tgl	-
7 R.J.	22	männl.	offene Patella- fraktur	10	-	-
8 A.H.	26	männl.	Femurfraktur	7	-	-
9 Sch.K.	35	männl.	Beckenfraktur	-	-	-
10 V.K.	42	männl.	Schonkelhals- fraktur	7	Alkoholabusus	GGT: 220 U/l Bilrub: 4,5g/dl Gs.Bil: 1,3mg
11 L.A.	60	weibl.	Unterschenkel- fraktur	17	Alkoholabusus Entzugssyndrom Harnwegsinfekt	GGT: 72 U/l

Tabelle 3 : Daten der Versuchspersonen, Gruppe 2

nl. Nr Name	Alter in Jahren	Geschlecht	Grunderkrankung	Zeitraum zw. Operation u. Versuch in Tagen	Andere Erkrankungen	Auffällige Laborwerte
2 M.T.	53	weibl.	Tibiaschaftfraktur	7	Hypotonie Varizen	Ges.Bili: 1,1 mg
3 Z.F.	57	männl.	Schenkelhals- Fraktur	12	-	GGT:163U/l Quick: 85%
4 H.J.	51	männl.	Osteomyelitis nach Schenkelhals- fraktur	-	Hepatopathie Alkoholabusus Hypertonie	GGT: 168U/l GOT: 36U/l Alk.P: 278U/l GS.Bil. 1,1mg%
5 K.V.	79	weibl.	Schenkelhals- fraktur	16	Diabetes mellitus mit Insulin beh.	Eiweiß: 5,9g/
6 R.T.	21	männl.	Osteomyelitis	-	-	-
7 E.R.	39	männl.	Tibia- schaftfraktur	10	Alkoholabusus	GGT: 176 U/l GOT: 36 U/l
8 B.T.	36	männl.	Humerusfraktur	8	-	-
9 B.A.	20	männl.	Schenkelschaftfrakt.	5	-	-
10 W.R.	70	männl.	Schenkelhalsfraktur	7	koronare Gefäßherkr.	-
11 K.A.	49	männl.	Innenbandriß	22	-	-
12 T.V.	47	männl.	LWK- Impressionsfr.	-	-	-

2. Intermittierende, sequentielle Kompression (ISK)

2.1 Verwendete Materialien

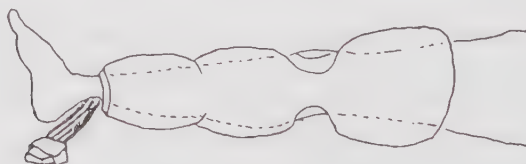
- T.E.D. Kompressionsgerät der Fa. Kendall, Neustadt,
bestehend aus Steuergerät
Bereitschaftswagen für Gerät und Zubehör
Druckluftschläuche
Kompressionsmanschetten, Oberschenkelgürtel
- Stauschlauch
- Sarstedt Monovetten für Gerinnungsuntersuchungen,
10 ml

2.2 Prinzip und Durchführung

Zur intermittierenden, sequentiellen Beinvenenkompression werden aufblasbare, flexible Kunststoffmanschetten um beide Beine der Patienten gelegt. Die Manschetten, es handelte sich um 3-Kammer-Manschetten, reichten vom Knöchel bis zum Oberschenkel. Sie gestatten dem Patienten größtmögliche Bewegungsfreiheit, sind auch mit Luftkühlung ausgerüstet. Die drei aufblasbaren Kammern befanden sich jeweils am Knöchel, an der Wade und am Oberschenkel, das Knie blieb frei. Das Gerät übte einen bestimmten Druck aus, bei unseren Untersuchungen handelte es sich um einen Druck von 90 mmHg. In einem genau festgelegten Zeitzyklus am Knöchel beginnend sequentiell bis zum Oberschenkel werden die Manschetten mit Luft gefüllt. Der Druck wird im Steuergerät erzeugt und durch Einpumpen der Luft in die Beinmanschetten auf den Patienten übertragen. Über Anschlußschläuche gelangt die Luft vom Steuergerät in die Beinmanschetten. Diese

Schlauchverbindung besteht aus vier parallel miteinander verbundenen schmalen Kunststoffschläuchen, die mit Steckverbindungen zur Befestigung an zwei separaten Beinmanschetten versehen sind.

Die Zeit, in der der Druck von 0 auf 90 mmHg ansteigt, beträgt etwa 12 Sekunden. In dieser Zeit wird das Venensystem der Beine komprimiert, der Venenpool leergepumpt. Es folgt eine Pause von etwa 60 sec. ohne äußere Druckanwendung, in der sich das Venensystem wieder auffüllen kann, danach erfolgt der nächste Kompressionszyklus. Das Ziel dieser intermittierenden sequentiellen Kompression ist es, die Fließgeschwindigkeit des Blutes zu erhöhen und möglicherweise durch Druck auf die Venenwände eine erhöhte Freisetzung des Gefäßwandaktivators zu erreichen.



Beim Anlegen der Manschetten mußte darauf geachtet werden, daß die Klettverschlüsse gut hafteten, sich also beim Auffüllen mit Luft nicht lösen konnten. Andererseits durften die Manschetten nicht zu fest angelegt werden, damit ein ständiger Druck auf das Venensystem vermieden wurde.

Die Blutentnahme erfolgte mit Sarstedt-Monovetten für Gerinnungsuntersuchungen, die bereits Natriumzitrat enthielten, aus der kurz gestauten Kubitalvene, ca. 10 cm

über der Ellenbeuge. Es wurden bei jeder Blutentnahme, d.h. vor Heparin-gabe, vor und nach Kompression je zwei Monovetten zu 10 ml entnommen. Das Blut wurde sofort 15 min. bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert, das Plasma z.T. gleich weiter verarbeitet oder für spätere Untersuchungen im Tiefkühlschrank bei -20°C aufbewahrt.

3. Bestimmung der Plasminogenkonzentration

3.1 Verwendete Materialien und Geräte

- Automatische Geräteeinheit der Fa. Behringwerke AG,
bestehend aus Lasernephelometer
Transportautomatik
Probenautomatik
Rechner (Diehl DS 400)
Kunststoffküvetten (Fa. Behringwerke AG)
- Klärungsmittel für trübe Seren (Fa. Behringwerke AG)

3.2 Prinzip und Durchführung

Eine Plasmaverdünnung und eine Antiserumverdünnung, die gegen das zu bestimmende Protein gerichtet ist, werden vermischt. Im Reaktionsgemisch läuft eine AG-AK-Reaktion ab. Es bilden sich dabei Immunkomplexe, die Lösung wird trüb.

Wird nun ein scharf gebündelter Laserstrahl mit definierter Wellenlänge durch eine Küvette mit diesem Reaktionsgemisch geschickt, so streut sich das Licht charakteristisch an den entstandenen Immunkomplexen. Bei

Partikeln, die größer sind als die Wellenlänge des verwendeten Lichts (in diesem Falle die Immunkomplexe), erfolgt die Streuung vor allem in Ausbreitungsrichtung des Strahls. Es entsteht hinter den Partikeln ein keulenförmiger Bereich mit erhöhter Lichtintensität (16). Eine nachgeschaltete Photoelektrode mißt bei der L-Nephelometrie das Vorwärtsstreulicht und gibt die erzeugten Spannungen als Meßwerte an.

Um die Spannungswerte in Konzentrationen umrechnen zu können, muß eine Referenzkurve erstellt werden. Dazu werden Verdünnungen eines Standards, der eine definierte Konzentration enthält, nach dem oben erläuterten Prinzip gemessen.

Sowohl die zu bestimmenden Patientenproben als auch der verwendete Standard sollten klar sein. Partikel, die eine meßbare Trübung verursachen, müssen vorher entfernt werden, da bei unterschiedlicher Trübung vor der Antigen-Antikörper-Reaktion kein eindeutiger Rückschluß auf die Menge der Immunkomplexe bzw. die Plasminogenkonzentration mehr möglich ist. Um diese zu erreichen, wird jedes Plasma im Verhältnis 1:1 mit "Klärungsmittel für trübe Seren" (Behringwerke AG) versetzt, kräftig durchmischt, der Überstand dann abpipettiert.

Die geklärten Plasmen werden im Verhältnis 1:10 (mit Diluter) oder 1:11 (mit Kolbenhubpipette) mit 0,9 % Natriumchlorid verdünnt. Vom benötigten Antiserum stellt man eine Verdünnung von 1:5 ebenfalls mit Kochsalzlösung her.

Um die gemessenen Spannungsdifferenzen auswerten zu können, müssen Referenzwerte erstellt werden. Dazu wird der Standard mit NaCl in folgenden Verhältnissen verdünnt: 1:2,5; 1:5; 1:10; 1:20; 1:40; 1:80.

Als Standard wird gepooltes normales Mischplasma ver-

wendet, dessen Plasminogenkonzentration als 100 % der Norm angenommen wird. Dieser Standard ist bei Lagerung von -20°C etwa sechs Monate haltbar.

Als Reaktionsgemisch verwendet man 200 μl Antiserumverdünnung, pipettiert dazu 100 μl Proben- oder Standardverdünnung. Gemessen wird dieses Reaktionsgemisch in Kunststoffküvetten, die weder verkratzt noch verschmutzt sein dürfen und bei Blindwerten von über 0,3 Volt nicht verwendet werden können.

Beim dem von uns verwendeten Gerät mit Probenautomatik mußten lediglich die unverdünnten Plasma- bzw. Standardproben manuell in Küvetten pipettiert werden. Reagenzien mußten in genügender Menge vorhanden sein. Verdünnungen von Plasmen, Standard und das Reaktionsgemisch wurden vollautomatisch hergestellt.

Nach einer 60minütigen Reaktionszeit erfolgt die Messung. In dieser Zeit läuft die Antigen-Antikörper-Reaktion ab, die Immunkomplexe bilden sich. Am Ende ist das Meßsignal für 5 - 15 min konstant.

Bei unserem Gerät mit Transportautomatik war eine konstante Reaktionszeit gewährleistet, alle Messungen wurden nach exakt 30 Minuten vorgenommen. Während dieser Reaktionszeit mußten wir Erschütterungen vermeiden.

Das von uns verwendete Gerät ist über ein Interface mit einem Rechner verbunden (Diehl DS 400).

Hier werden die Spannungswerte, die mit der Photodiode erzeugt werden, automatisch an den Rechner weitergegeben, von ihm dann mit Hilfe der gespeicherten Referenzwerte verarbeitet. Spannungsdifferenzen in Volt und be-

rechnete Plasminogenkonzentrationen in mg/dl werden ausgedruckt. Eine Referenzkurve mußte also nicht erstellt werden.

Der Meßbereich beträgt 1,6 - 52 mg/dl, der Normalbereich liegt zwischen 6 und 25 mg/dl.

Tabelle 4 : Bei der Nephelometrie gemessene Spannungsdifferenzen
(Doppelbestimmungen), Gruppe 1

b = vor Kompression
c = nach Kompression

Lfd. nr.	Name	Spannungsdifferenzen in Volt (Doppelbestimmungen mit Bindestrich verbunden)		
		1. Tag	2. Tag	3. Tag
1b	T.G.	5,73-5,73	4,85- 4,77	4,70-4,63
1c		5,12-5,04	4,65- 4,62	4,65-4,55
2b	Sch.R.	8,68-8,37	7,66-7,57	7,03-7,01
2c		8,47-8,29	7,66-7,36	7,08-6,95
3b	R.F.	5,67-5,60	5,71-5,56	6,33-6,18
3c		5,69-5,62	5,16-5,02	5,74-5,59
4b	Sch.R.	5,89-5,79	5,58-5,47	6,42-6,31
4c		6,36-6,29	5,56-5,39	6,22-6,17
5b	Z.G.	6,43-6,28	6,06-5,38	5,96-5,95
5c		6,50-6,45	6,04-6,17	5,98-5,82
6b	V.C.	6,04-6,19	6,52-6,60	5,88-5,83
6c		6,40-6,43	6,21-6,34	5,71-5,60
7b	R.J.	6,87-6,95	6,48-6,43	6,21-6,24
7c		6,63-6,63	6,70-6,45	7,00-7,00
8b	A.H.	4,92-5,01	4,32-4,40	4,36-4,42
8c		4,84-4,93	4,04-4,10	4,21-4,28
9b	Sch.K.	1,27-1,33	1,51-1,58	1,53-1,55
9c		1,42-1,48	1,77-1,82	2,05-2,12
10b	V.K.	7,18-7,25	5,85-5,87	5,82-5,87
10c		6,63-6,65	5,97-6,02	5,58-5,63
11b	L.A.	5,93-5,92	5,60-5,54	5,39-5,40
11c		5,23-5,31	5,49-5,47	5,43-5,40

Tabelle 5 : Plasminogenkonzentrationen der Plasmen,
(Doppelbestimmungen), Gruppe 1

b = vor Kompression
c = nach Kompression

Lfd. Nr.	Name	Plasminogenkonzentration in mg/dl (Doppelbestimmungen mit Bindestrich verbunden)			
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnitts- wert
1b	T.G.	12,1-12,1	9,1- 9,5	9,3- 9,2	10,3
1c		10,4-10,2	9,2- 9,1	9,2- 9,0	9,5
2b	Sch.R.	22,3-21,0	18,2-17,9	16,0-15,9	18,6
2c		21,4-20,6	18,2-18,1	16,2-15,7	18,4
3b	R.F.	11,9-11,7	12,0-11,6	13,8-13,4	12,4
3c		12,0-11,8	10,5-10,2	12,1-11,7	11,4
4b	Sch.R.	12,5-12,2	11,6-11,4	14,1-13,7	12,6
4c		13,9-13,7	11,6-11,1	13,5-13,3	12,9
5b	Z.G.	14,1-13,6	13,0-12,3	12,7-12,7	13,1
5c		14,3-14,2	12,9-13,3	12,8-12,3	13,3
6b	V.C.	13,0-13,4	14,4-14,6	12,5-12,3	13,4
6c		14,2-14,1	13,4-13,8	12,0-11,7	13,2
7b	R.J.	15,5-15,7	14,3-14,1	13,4-13,5	14,4
7c		15,5-15,7	14,3-14,1	13,4-13,5	14,4
8b	A.H.	9,9-10,1	8,4- 8,6	8,5- 8,7	9,0
8c		9,7- 9,9	7,8- 7,9	8,2- 8,3	8,6
9b	Sch.K.	2,4- 2,5	2,8- 2,9	2,8- 2,9	2,7
9c		2,6- 2,7	3,2- 3,3	3,7- 3,8	3,1
10b	V.K.	16,5-16,7	12,4-12,5	12,3-12,5	13,8
10c		14,7-14,8	12,7-12,9	11,6-11,8	13,1
11b	L.A.	12,6-12,6	11,7-11,5	11,1-11,2	11,8
11c		10,7-10,9	11,4-11,4	11,2-11,2	11,1

Tabelle 6 : Bei der Nephelometrie gemessene Spannungsdifferenzen
(Doppelbestimmungen), Gruppe 2

a = vor Heparin-gabe c = nach Kompression

b = nach Heparin-gabe = vor Kompression

Lfd. Nr.	Name	Spannungsdifferenzen in Volt (Doppelbestimmungen mit Bindestrich verbunden)		
		1. Tag	2. Tag	3. Tag
12a	M.T.	6,83-6,96	5,87-5,95	6,04-6,10
12b		6,30-6,43	6,16-6,34	5,75-5,96
12c		6,06-6,20	6,05-6,19	5,85-6,04
13a	Z.F.	6,84-7,03	7,36-7,36	7,00-7,01
13b		7,26-7,41	6,79-6,67	7,05-7,16
13c		7,44-7,65	7,11-7,16	6,63-6,68
14a	H.J.	6,56-6,79	6,26-6,26	5,82-5,88
14b		6,19-6,26	5,55-5,60	5,50-5,56
14c		6,42-6,49	6,44-6,52	5,48-5,49
15a	K.V.	2,48-2,54	2,15-2,21	2,81-2,86
15b		2,15-2,22	1,83-1,91	2,38-2,34
15c		2,15-2,20	2,24-2,27	1,51-1,50
16a	R.T.	7,32-7,55	7,15-6,98	7,37-7,39
16b		7,52-7,54	7,32-7,47	7,54-7,61
16c		7,50-7,51	6,98-6,94	7,19-7,24
17a	E.R.	7,26-7,36	6,01-6,12	5,64-5,67
17b		6,59-6,70	6,56-6,60	5,47-5,58
17c		6,41-6,47	5,86-6,02	5,56-5,54
18a	B.T.	7,15-7,16	7,53-7,56	7,59-7,67
18b		7,28-7,24	7,23-7,35	7,52-7,52
18c		7,45-7,49	7,49-7,46	7,50-7,50
19a	B.A.	6,27-6,30	6,36-6,15	6,26-6,21
19b		6,25-6,28	7,39-7,32	7,16-7,03
19c		6,43-6,25	6,70-6,60	6,31-6,21
20a	W.R.	6,45-6,40	5,59-5,48	5,19-5,24
20b		6,35-6,24	5,29-5,28	5,16-5,04
20c		5,75-5,44	5,54-5,68	5,04-5,03
21a	K.A.	6,21-6,13	5,97-5,89	5,89-5,90
21b		6,42-6,38	6,06-5,91	5,83-5,87
21c		6,23-6,18	5,75-5,74	5,82-5,87
22a	T.V.	6,45-6,38	6,71-6,64	6,16-5,98
22b		7,08-6,98	6,96-6,63	6,54-6,36
22c		6,54-6,49	6,47-6,49	6,34-6,07

Tabelle 7 : Plasminogenkonzentrationen der Plasmen
(Doppelbestimmungen), Gruppe 2

a = vor Heparin-gabe c = nach Kompression
b = nach Heparin-gabe = vor Kompression

Lfd. Nr.	Name	Plasminogenkonzentration in mg/dl (Doppelbestimmungen mit Bindestrich verbunden)			
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschn.Wert
12a	M.T.	15,4-15,8	12,5-12,7	12,9-13,1	13,7
12b		13,7-14,1	13,3-13,8	12,1-12,7	13,3
12c		13,0-13,4	13,0-13,4	12,4-12,9	13,0
13a	Z.F.	15,4-16,0	17,1-17,1	15,9-15,9	16,2
13b		16,8-17,3	15,2-14,8	16,1-16,4	16,1
13c		17,4-18,2	16,3-16,4	14,7-14,9	16,3
14a	H.J.	14,5-15,2	13,6-13,6	12,3-12,5	13,6
14b		13,4-13,6	11,6-11,7	11,4-11,4	12,2
14c		14,1-14,3	14,1-14,4	11,4-11,4	13,3
15a	K.V.	4,5- 4,6	3,9- 4,0	5,1- 5,2	4,6
15b		3,9- 4,0	3,3- 3,5	4,3- 4,2	3,9
15c		3,9- 4,0	4,1- 4,1	2,8- 2,8	3,6
16a	R.T.	17,0-17,8	16,4-15,8	17,2-17,2	16,9
16b		17,7-17,8	17,0-17,5	17,8-18,0	17,6
16c		17,6-17,7	15,8-15,7	16,5-16,7	16,7
17a	E.R.	16,8-17,1	12,9-13,2	11,8-11,9	14,0
17b		14,6-14,9	14,5-14,6	11,4-11,6	13,6
17c		14,0-14,2	12,7-12,9	11,6-11,5	12,8
18a	B.T.	16,4-16,4	17,7-17,8	17,9-18,2	17,4
18b		16,9-16,7	16,7-17,1	17,7-17,7	17,1
18c		17,4-17,6	17,6-17,5	17,6-17,6	17,6
19a	B.A.	13,6-13,7	13,9-13,3	13,6-13,4	13,6
19b		13,6-13,6	17,2-17,0	16,4-16,0	15,6
19c		13,6-13,7	13,9-13,3	13,6-13,4	13,6
20a	W.R.	14,2-14,0	11,7-11,4	10,6-10,7	12,1
20b		13,9-13,5	10,9-10,8	10,5-10,2	11,6
20c		12,1-11,3	11,5-12,0	10,2-10,2	11,2
21a	K.A.	13,4-13,2	12,7-12,5	12,5-12,5	12,8
21b		14,1-13,9	13,0-12,6	12,3-12,5	13,1
21c		13,5-13,4	12,1-12,1	12,3-12,3	12,6
22a	T.V.	14,2-13,9	15,0-14,7	13,3-12,8	14,0
22b		16,2-15,8	15,8-14,7	14,4-13,9	15,1
22c		14,4-14,3	14,2-14,3	13,8-13,0	14,0

4. Bestimmung der Euglobulinlysezeit

4.1 Verwendete Materialien und Geräte

- Wasserbad, 37°C
- Zentrifuge AHT, Typ 5000 mit großen Einsätzen
- Kühlschrank, 4°C
- Eppendorf Photometer
- Eppendorf Kulbenhubpipetten, 300 µl, 200 µl
- Meßpipetten, 10 ml, 1 ml
- Plastikspatel
- Erlenmeyerkolben, 50 ml
- Sarstedt Monovetten für Gerinnungsuntersuchungen, 10 ml
- Polystyrolröhrchen, 15x100 mm, 20x100 mm
- Aqua bidest
- Essigsäure 1 %
- Gepufferte Kochsalzlösung, bestehend aus 1 Teil Natrium-Barbital-Acetat-Puffer und 4 Teilen physiologischer Kochsalzlösung
- Thrombin (Topostat^R der Firma Hoffmann La-Roche)

4.2 Prinzip und Durchführung

Es wird die fibrinolytische Aktivität des Plasmas ohne Hemmwirkung der Antiplasminе untersucht. Durch Säurefällung der Euglobuline bleiben diese Inhibitoren im Überstand. Im Rückstand läßt sich die Summe der Aktivator- und Plasminaktivität an der Wiederauflösung des durch Thrombin induzierten Fibringerinnsels beurteilen.

Nach Venenpunktion wird mit Monovetten Citratblut in einer Verdünnung von 1:10 (1 Teil 3,8 %ige Citratlösung, 9 Teile Blut) hergestellt. Um thromocytenarmes Citrat-

blut zu gewinnen, zentrifugiert man das Blut sofort nach Entnahme 15 Minuten bei 3000 rpm, pipettiert das Plasma ab und verwirft die korpuskulären Bestandteile. Dieses Plasma sollte so schnell als möglich verarbeitet werden, im Kühlschrank (4°C) kann man es im Höchstfall zwei Stunden aufbewahren.

Im folgenden werden 15 ml eisgekühltes Aqua bidest, 1 ml Citratplasma und 300 μl 1 %ige Essigsäure in einem 50 ml Erlenmeyerkolben vermischt. Der Erlenmeyerkolben wird mit Parafilm verschlossen und 10 min bei 4°C im Kühlschrank inkubiert.

Während dieser Zeit werden durch den gesenkten pH-Wert (Essigsäure) die Euglobuline ausgefällt, die Lösung wird trüb. Nach der Inkubation dekantiert man die Lösung in ein vorgekühltes Polystyrolröhrchen (20x100 mm) und zentrifugiert 5 min bei 3000 rpm. Nun wird der Überstand verworfen, die Innenseite des Röhrchens vorsichtig mit Löschpapier getrocknet, wobei das Sediment nicht berührt werden darf. Mit 1 ml vorgekühlter gepufferter Kochsalzlösung wird das Sediment mit Hilfe eines Plastikspatels vollständig gelöst. Ist dies erreicht, werden je 300 μl der verdünnten Euglobulinlösung in zwei Polystyrolröhrchen (10x100 mm) pipettiert. Jedem Röhrchen werden 100 μl Thrombinlösung zugesetzt, die Röhrchen sofort mit einem Stopfen verschlossen, einmal umgestülpt, wobei keine Blasen entstehen sollten, und dann in einem Wasserbad bei 37°C inkubiert. Um den Gerinnungsvorgang, der in den ersten 1 - 2 Minuten abläuft, nicht zu stören, dürfen die Röhrchen keiner stärkeren Erschütterung ausgesetzt werden. Es wird in beiden Röhrchen die Zeit ab der Thrombinzugabe bis zur vollständigen Auflösung des Gerinnsels gemessen, dann der Mittelwert gebildet. Die Mindestzeit, die bis zur Auflösung eines Gerinnsels verstreichen sollte, liegt

normalerweise bei einem Wert von über 3 Stunden. Erfolgt die Auflösung schneller, weist dies auf eine gesteigerte Fibrinolyse hin.

4.3 Auswertung der Meßergebnisse

Wir beobachteten die Gerinnselauflösung über einen Zeitraum von maximal 5 Stunden (= 300 min) und gaben die Lysegrade nach folgendem Bewertungsschema an:

Ø	=	keine Lyse in 300 min
+	=	geleeartig, undurchsichtig nach 300 min
++	=	mehrere einzelne Gerinnsel nach 300 min
+++	=	ein Gerinnsel nach 300 min

Um dieses Bewertungsschema graphisch darstellen zu können, verteilten wir für die einzelnen Lysegrade pro 300 min folgende Punktzahlen:

Lyse total	=	20 Punkte
+++	=	15 Punkte
++	=	10 Punkte
+	=	5 Punkte
Ø	=	0 Punkte

Lösten sich die Gerinnsel in weniger als 300 min völlig auf, so wählten wir für jede Viertelstunde unter der Maximalzeit einen Wert von 2 Punkten:

total in 300 min	=	20 Punkte
total in 285 min	=	22 Punkte
total in 270 min	=	24 Punkte
total in 255 min	=	26 Punkte usw.

Tabelle 8 : Erythrocytenlysezeit, Gruppe 1

b = vor Kompression

c = nach Kompression

Lfd. Nr.	Name	Erythrocytenlysezeit angegeben als Lysegrad in Minuten		
		1. Tag	2. Tag	3. Tag
1b	T.G.	+++/300	+++/300	+ /300
1c		++/300	++/300	total/300
2b	Sch.R.	+ /300	∅	+++ /300
2c		+ /300	∅	+++ /300
3b	R.F.	total /135	total/245	total/105
3c		total /255	total/290	total/105
4b	Sch.R.	total/285	total/300	total/300
4c		total/270	total/300	total/290
5b	Z.G.	++/300	+++ /300	+++ /300
5c		+++ /300	total/300	total/300
6b	V.C.	total/205	total/300	total/280
6c		total/300	total/300	total/300
7b	R.J.	total/240	+++ /300	++ /300
7c		total/300	+++ /300	+++ /300
8b	A.H.	∅	∅	∅
8c		+ /300	+ /300	+ /300
9b	Sch.K.	++/300	total/300	++ /300
9c		total/235	total/220	total/190
10b	V.K.	∅	++ /300	+++ /300
10c		∅	total/270	+++ /300
11b	L.A.	∅	∅	++ /300
11c		+ /300	∅	++ /300

Tabelle 9 : Punktebewertung der Euglobulinlysezeit, Gruppe 1

b = vor Kompression

c = nach Kompression

Lfd. Nr.	Name	Lysegrade der Euglobulinlysezeit angegeben in Punkten			
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschn. Wert
1b	T.G.	15,0	15,0	5,0	11,7
1c		10,0	10,0	20,0	13,3
2b	Sch.R.	5,0	Ø	15,0	6,7
2c		5,0	Ø	15,0	6,7
3b	R.F.	42,0	27,3	46,0	38,4
3c		26,0	21,3	46,0	31,1
4b	Sch.R.	22,0	20,0	20,0	20,7
4c		24,0	20,0	21,3	21,8
5b	Z.G.	10,0	15,0	15,0	13,3
5c		15,0	20,0	20,0	18,3
6b	V.C.	32,7	20,0	22,7	25,1
6c		20,0	20,0	20,0	20,0
7b	R.J.	28,0	15,0	10,0	17,7
7c		20,0	15,0	15,0	16,7
8b	A.H.	Ø	Ø	Ø	Ø
8c		5,0	5,0	5,0	5,0
9b	Sch.K.	10,0	15,0	10,0	11,7
9c		28,7	30,7	34,7	31,4
10b	V.K.	Ø	15,0	20,0	11,7
10c		Ø	24,0	20,0	14,7
11b	L.A.	Ø	Ø	10,0	3,3
11c		5,0	Ø	10,0	5,0

Tabelle 10: Euglobulinlysezeit, Gruppe 2

a = vor Heparungabe c = nach Heparungabe
b = nach Heparungabe = vor Kompression

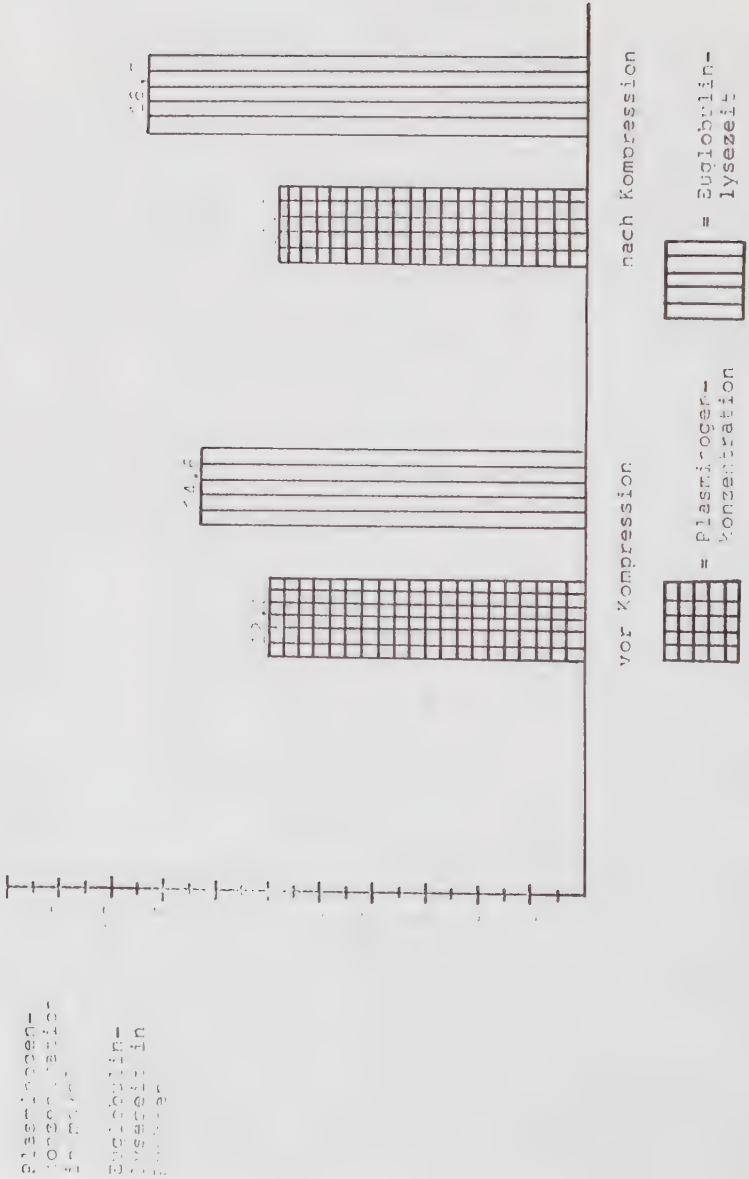
Lfd. Nr.	Name	Euglobulinlysezeit angegeben als Lysegrad in Minuten		
		1. Tag	2. Tag	3. Tag
12a 12b 12c	M.T.	total/180 total/135 +++/300	total/170 total/300 total/300	++/300 total/240 total/150
13a 13b 13c	Z.F.	Ø Ø Ø	Ø Ø Ø	Ø Ø Ø
14a 14b 14c	H.J.	Ø Ø Ø	Ø Ø Ø	Ø Ø Ø
15a 15b 15c	K.V.	total/170 total/300 total/300	total/300 +/300 +/300	total/240 total/300 total/255
16a 16b 16c	R.T.	+++/300 Ø +/300	Ø Ø total/300	Ø Ø Ø
17a 17b 17c	E.R.	Ø Ø Ø	Ø Ø Ø	total/195 ++/300 total/300
18a 18b 18c	B.T.	Ø Ø Ø	Ø Ø Ø	Ø Ø Ø
19a 19b 19c	B.A.	Ø Ø ++/300	+/300 ++/300 ++/300	++/300 total/150 total/210
20a 20b 20c	W.R.	total/165 +++/300 +++/300	total/300 ++/300 total/300	total/200 ++/300 ++/300
21a 21b 21b	K.A.	+++/300 total/300 total/165	+++/300 total/255 total/240	+/300 Ø +++/300
22a 22b 22c	T.V.	total/270 total/215 total/205	total/270 total/205 total/150	total/225 total/180 total/180

Tabelle 11: Punktebewertung der Euglobulinlysezeit, Gruppe 2

a = vor Heparin-gabe c = nach Kompression
b = nach Heparin-gabe = vor Kompression

Lfd. Nr.	Name	Lysegrade der Euglobulinlysezeit angegeben in Punkten			
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschn. Wert
12a	M.T.	36,0	37,3	15,0	29,4
12b		42,0	20,0	28,0	30,0
12c		15,0	20,0	40,0	25,0
13a	Z.F.	Ø	Ø	Ø	Ø
13b		Ø	Ø	Ø	Ø
13c		Ø	Ø	Ø	Ø
14a	H.J.	Ø	Ø	Ø	Ø
14b		Ø	Ø	Ø	Ø
14c		Ø	Ø	Ø	Ø
15a	K.V.	37,3	20,0	28,0	25,8
15b		20,0	5,0	20,0	15,0
15c		20,0	5,0	26,0	17,0
16a	R.T.	15,0	Ø	Ø	5,0
16b		Ø	Ø	Ø	Ø
16c		5,0	20,0	Ø	8,3
17a	E.R.	Ø	Ø	34,0	11,3
17b		Ø	Ø	10,0	3,3
17c		Ø	Ø	20,0	6,7
18a	B.T.	Ø	Ø	Ø	Ø
18b		Ø	Ø	Ø	Ø
18c		Ø	Ø	Ø	Ø
19a	B.A.	Ø	5,0	10,0	5,0
19b		Ø	10,0	40,0	16,7
19c		10,0	10,0	32,0	17,3
20a	W.R.	38,0	20,0	33,3	30,4
20b		15,0	10,0	10,0	11,6
20c		15,0	20,0	10,0	15,0
21a	K.A.	15,0	15,0	5,0	11,7
21b		20,0	26,0	Ø	15,3
21c		38,0	28,0	20,0	28,7
22a	T.V.	24,0	24,0	30,0	26,0
22b		31,3	32,7	36,0	33,3
22c		32,7	40,0	36,0	36,2

Abb. 1: Konzentrationsverläufe des Plasminogen- und des Plasminogenkonzentrationsverlaufs bei der Lyse von Erythrozyten.





5. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

5.1 Ergebnisse

Wir bestimmten die Plasminogenkonzentration und Euglobulinlysezeit, um eine eventuelle Steigerung der Fibrinolyse nach intermittierender sequentieller Kompression, Heparinalgabe und einer Kombination von beiden aufzeigen zu können.

Die Spannungsdifferenzen, die bei der Nephelometrie gemessen wurden, sind in Tabelle 4 und 6 dargestellt, die dazugehörigen Plasminogenkonzentrationen in Tab. 5 und 7.

Die Lysegrade der Euglobulinlysezeit finden sich in Tab. 8 und 10, die dazugehörige Punktebewertung in Tab. 9 und 11. Es zeigte sich, daß die Plg-Konzentration bei Gruppe 1 von 12,0 mg/dl vor Kompression auf 11,7 mg/dl nach Kompression abfiel. Die Euglobulin-Lysezeit konnte um 2,1 Punkte von 14,6 auf 16,7 Punkte gesteigert werden, wobei die höhere Punktzahl eine kürzere ELT anzeigt.

Bei Gruppe 2 fiel die Plg-Konzentration von anfänglich 13,7 mg/dl vor Heparinalgabe auf 13,2 mg/dl 4 Stunden nach Heparinalgabe, stieg jedoch nach Kompression wieder auf 13,4 mg/dl an. Die ELT konnte nach Heparinalgabe nicht verkürzt werden, im Gegenteil, sie verlängerte sich, was sich in der Punktezah von 13,1 vor Heparin und 11,4 nach Heparin widerspiegelt. Nach Kompression konnte die ELT um 2,6 Punkte auf 14,0 gesteigert werden, sie verkürzte sich damit also wieder.

Eine sehr niedrige Plasminogenkonzentration, die außer-

halb des Normbereiches lag, fand sich bei den Pat. Nr. 9 und 15. Bei Pat. Nr. 15 handelt es sich um einen insulinpflichtigen Diabetiker, die Anamnese des Pat. Nr. 9 ist unauffällig.

Sehr niedrige Lysequoten, d.h. lange Lysezeiten bei der Euglobulinlysezeit, fanden sich bei den Patienten 2, 8, 11, 16 und 17. Bei den Patienten 13, 14 und 18 lösten sich die Gerinnsel überhaupt nicht.

Die Anamnese des Pat. Nr. 2 weist einen Alkoholabusus auf, der aber eher eine verkürzte Lysezeit erklären würde, ebenso bei den Pat. 11, 14 und 17. Die Anamnesen der Pat. Nr. 8, 13, 16 und 18 sind unauffällig.

5.2 Diskussion

Sowohl die Werte der Plg-Konzentration als auch die Zeiten, die bis zur Auflösung der Gerinnsel verstrichen, schwankten bei den einzelnen Patienten von Tag zu Tag sehr stark.

Gruppe 1: Aus den Anamnesen der Pat. Nr. 2, 10 und 11 geht hervor, daß ein Alkoholabusus besteht, zum Teil waren die Transaminasen stark erhöht. Dies ließe nach Arnman (59) eine gesteigerte Fibrinolyse und somit wesentlich verkürzte Zeiten bei der Euglobulinlysezeit erwarten. Unsere Ergebnisse waren zu inhomogen, um diese These bestätigen oder widerlegen zu können. Bei Pat. Nr. 2 lagen zwar die Werte für Plasminogen im oberen Drittel des Normbereiches, die ELT war jedoch nicht verkürzt. Bei den Pat. Nr. 10 und 11 hatten sich die Gerinnsel nach 5 Stunden zum Teil noch nicht gelöst, die Plg-Konzentrationen lagen im Normbereich. Bei Pat. Nr. 9,

der ja abnorm niedrige Plg-Werte zeigte, war die ELT normal.

Gruppe 2: Dasselbe wie bei den Patienten der Gruppe 1 mit Alkoholabusus war auch in dieser Gruppe bei den Pat. Nr. 14 und 17 zu beobachten. Hier zeigten sich weder verkürzte Lysezeiten noch erniedrigte Plasminogenwerte.

In allen Fällen scheint die Leberschädigung nicht so stark zu sein, daß das Gerinnungs- bzw. Fibrinolysesystem bereits in Mitleidenschaft gezogen ist.

Das Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob durch die intermittierende sequentielle Kompression bzw. Heparin-gabe Veränderungen der Fibrinolyseaktivität stattfinden, die indirekt durch Verkürzung der Lysezeiten oder Plasminogenerniedrigung in Erscheinung traten. Verschiedene Untersuchungen (36, 40, 27) haben ergeben, daß durch Kompression die venöse Strömungsgeschwindigkeit des Blutes sehr stark ansteigt (36), es durch Kompression der Venen zu einer lokalen Freisetzung des Gefäßwandaktivators kommt (27) und so die Thrombosehäufigkeit am 3. postoperativen Tag wesentlich gesenkt werden konnte (27).

Bei den Durchschnittswerten der Gruppe 1 zeigte sich, daß die Plasminogenkonzentration nach Kompression gering gesenkt werden konnte. Der gleiche Trend wurde bei der ELT deutlich, wo sich die Gerinnsel im Schnitt nach Kompression schneller gelöst hatten als vor Kompression (Abb. 1). Dies könnte auf eine Aktivierung der Fibrinolyse hindeuten.

Bei den Patienten der Gruppe 2 hatte außer der Kompression Heparin noch einen Einfluß auf die Fibrinolyse.

Nach Gabe von Heparin kommt es nach Markwardt und Klöcking (26, 32) zu einer verstärkten Freisetzung von Plg-Aktivator, außerdem wirkt Heparin hemmend auf Gewebs- und Blutthromboplastin. Die genauere Beschreibung erfolgte bereits in 4.1.c.

Betrachtet man auch bei dieser Gruppe die Durchschnittswerte, so zeigt sich, daß nach Heparingabe die Plg-Konzentration geringfügig gesenkt werden konnte, sie nach Kompression jedoch wieder anstieg. Die ELT verhielt sich dazu völlig gegensinnig: Nach Heparingabe verlängerte sie sich, während sie nach Kompression wieder wesentlich verkürzt werden konnte (Abb. 2).

Die starken Schwankungen, die sich sowohl intra- als auch interindividuell teilweise zeigten, könnten durch folgende Störfaktoren bedingt sein:

Die Patienten waren zum Teil fest bettlägerig, zum Teil konnten sie das Bett verlassen. Teilweise waren sie noch kurz vor dem Anlegen der Kompressionsmanschetten auf dem Flur spazierengegangen. Nach Sanders-Williams et al. (60) kann durch körperliches Training die Fibrinolyse nach venösem Verschuß gesteigert werden, es wäre also gut möglich, daß auch hier die Mobilität bzw. die Immobilität der Patienten eine Rolle gespielt hat.

Ein weiterer möglicher Störfaktor lag in der Durchführung der intermittierend-sequentiellen Kompression. Verschiedene Autoren (36, 27, 61) arbeiteten mit unterschiedlichen Kompressionsdrücken. Bei Mühe betrug der Druck wie bei unseren Versuchen 90 mmHg (36), während bei Knight und Dawson nur ein Kompressionsdruck von 50 mmHg herrschte (27). Allen drei Autoren ist jedoch gemeinsam, daß sie die intermittierend-sequentielle Kompression über 24 bis 48 Stunden durchführten, wohinge-

gen unsere Kompressionsdauer nur bei 15 Minuten lag.

Allenby verglich 2 Gruppen von Patienten: Bei der einen wurde die ISK angewandt über eine Zeit von 48 Stunden. Die andere diente als Kontrollgruppe ohne ISK. Bei beiden Gruppen wurde präoperativ, nach 24 h und nach 48 h die Euglobulinlysezeitbestimmung durchgeführt. Allenby konnte zeigen, daß sich die Gerinnsel bei der Testgruppe bei einer Kompressionszeit von 48 h doppelt so schnell lösten wie bei der nicht behandelten Kontrollgruppe.

Bei unseren Versuchen lief die Kompression jeweils über 15 Minuten, es zeigte sich dabei lediglich eine geringe Verkürzung der ELT. Dies ist sicherlich darauf zurückzuführen, daß die Zeit der Kompression einfach zu kurz gewählt war, um größeren Einfluß auf das Fibrinolyse-System zu haben. Andererseits ist es in der Klinikroutine fast nicht durchführbar, den Patienten über längere Zeit (z.B. 48 h) die Kompressionsmanschetten anzulegen.

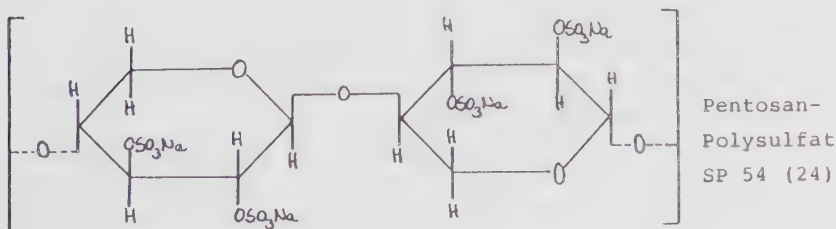
Ein dritter möglicher Störfaktor lag in der Durchführung der ELT. Nach Thrombinzugabe sollte das Röhrchen keinen Erschütterungen ausgesetzt werden, damit es nicht zu einer Störung der Gerinnselbildung kommt. Es dürfen sich auch keine Blasen bilden, was aber teilweise durch das Umschwenken der Röhrchen nicht zu umgehen war. Wir mußten weiterhin die Ansätze teilweise aus dem Wasserbad nehmen, um erkennen zu können, wie weit sich die Gerinnsel gelöst hatten, was sich möglicherweise auch als störend auf die Fibrinolyse auswirken könnte.

6. UNTERSUCHUNG VON SP 54

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit soll mit Hilfe einer modifizierten Fibrin-Differenz-Methode die Auswirkung von SP 54 auf das fibrinolytische System untersucht werden.

6.1 Wirkungsmechanismus von SP 54

SP 54 wurde erstmals 1955 hergestellt (50). Es handelt sich dabei um einen aus pflanzlichen Ausgangsstoffen halbsynthetisch hergestellten Pentosan-Polysulfoester mit einem sehr niedrigen Molekulargewicht von nur 2000. In chemischer und biologischer Hinsicht ist SP 54 sowohl mit den Heparinen und Heparinoiden als auch mit anderen im Organismus vorkommenden Polysaccharidschwefelsäureestern wie Chondroitinsulfat, Keratinsulfat etc. verwandt. Diese Körper weisen eine hohe elektrische Ladung auf, wodurch sie schon in extrem niedrigen Konzentrationen in biologischen Systemen zu interferieren vermögen (46).



Die Polymerkette von SP 54 setzt sich aus sulfatierten, 1 - 4 verknüpften β -D-Xylopyranoseresten zusammen, es ist ein Polyanion und zählt zu den Polyelektrolyten. MacGregor et al. (30) konnten feststellen, daß SP 54 aus dem Kreislauf durch das RES entfernt wird, in der Leber (möglicherweise auch Milz) desulfuriert und das desulfurierte Molekül anschließend in der Niere depolymerisiert und renal ausgeschieden wird.

Die biologische Wirksamkeit von SP 54 ist sehr vielfältig. Kalbhen (24) spricht von einer antiphlogistisch-antirheumatischen Wirksamkeit, Raff et al. (42) wies nach, daß SP 54 eine virushemmende Wirkung besitzt, wobei der antivirale Wirkungsmechanismus jedoch noch ungeklärt ist. Verschiedene Autoren konnten eine Aktivierung der Lipolyse über gesteigerte Aktivität der Lipoprotein-Lipase nachweisen (55, 15), Vinazzer beschreibt außerdem eine Hemmung der Blutgerinnung durch Inhibition des Faktors Xa (55).

Die wichtigste Funktion des Natrium-Pentosanpolysulfats ist jedoch seine Wirkung auf das fibrinolytische System. Es wurden bereits zahlreiche Versuche in vivo und in vitro durchgeführt (55, 46, 24, 30, 56), die zeigten, daß SP 54 die Fibrinolyse in beiden Fällen aktiviert, wobei man aber allgemein der Ansicht ist, daß die Aktivierung in vivo stärker ist als bei Zugabe in vitro (56, 55, 35). Dies wird zurückgeführt auf eine endogene Plasminogen-Aktivierung, wahrscheinlich über die Freisetzung eines Gefäßwandaktivators; dafür spricht auch die Verkürzung der Euglobulinlysezeit, die in diesen Fällen festgestellt wurde.

Des weiteren wird von einem Anstieg des Faktors XIIa, einer Inaktivierung des Kallikrein-Inhibitors (55) und Anti Xa-Aktivität gesprochen, wobei einige Autoren dies abhängig machen von Antithrombin III (55), andere wiederum nicht (35).

Vinazzer et al. konnten zeigen, daß bei parenteraler Gabe von SP 54 niedrigere Dosen zur Steigerung der Fibrinolyse ausreichen als bei enteraler und daß der Einfluß auf die Fibrinolyse bei i.v. Gabe schnell nachläßt, während er bei s.c. Injektion relativ lange bestehen bleibt (56).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der genaue Wirkungsmechanismus von SP 54 noch nicht vollständig geklärt ist und sicherlich noch weiterer Untersuchungen bedarf. Aus diesem Grunde wollten wir untersuchen, ob es nach Gabe von SP 54 zu einem Fibrinverlust kommt.

6.2 Versuchsplan und Patientenauswahl

Bei den untersuchten Personen handelte es sich um eine Gruppe von 11 Patienten der chirurgischen Poliklinik München, die über den genauen Ablauf des Versuchs aufgeklärt wurden und sich dazu bereit erklärten. Wir achteten wie bereits im ersten Teil der Arbeit darauf, daß etwaige traumatische Ereignisse oder Operationen mindestens 5 Tage zurücklagen, um die Einflüsse auf die Fibrinolyse möglichst gering zu halten.

Bei allen 11 Patienten wurde morgens um 8.00 Uhr zum ersten Male Blut entnommen. Anschließend mußten sie 2 Kapseln SP 54 (à 250 mg) einnehmen. Die nächste Blutentnahme erfolgte dann um 11.00 Uhr, also 3 Stunden nach Gabe von SP 54, eine weitere um 14.00 Uhr, 6 Stunden nach SP 54-Gabe.

Es wurde jeweils eine Sarstedt-Monovette für Gerinnungsuntersuchungen à 10 ml entnommen. Das Blut wurde sofort

zentrifugiert und das gewonnene Citratplasma auf 3 Prüf-
ansätze für die Fibrin-Differenz-Methode verteilt, die
jeweils 1, 3 und 24 Stunden bei 37°C inkubiert wurden.
Von jedem Prüfansatz wurde eine Doppelbestimmung durch-
geführt.

Die genaue Aufstellung der Patienten ist auf der folgen-
den Tabelle zu finden.

Tabelle 12: Daten der Versuchspersonen

Pat.Nr. Name	Alter in Jahren	Geschlecht	Grunderkrankung	Zeitraum zw. Operation u. Versuch in Tagen	Andere Erkrankungen	Auffällige Laborwerte
1 L.G.	48	männl.	Außenbandruptur li. Kniechel	5	-	Leukoc. 10 000
2 S.K.	18	männl.	Prellungen	-	-	-
3 E.F.	34	männl.	Osteomyelitis nach off. Tibia- fraktur	-	-	-
4 F.F.	39	männl.	Femurfraktur li.	-	-	-
5 H.J.	51	männl.	Prellungen	-	Varizes	-
6 B.J.	47	weibl.	Calcaneusfraktur li. (Trümmerfr.) re. ohne wesentl. Dislokation	10	Asthma bronchiale, Alkoholabusus	- 53 -
7 G.M.	73	weibl.	Tibiafraktur	45	-	Ges.Eiw. 5,9 g/100ml
8 E.G.	40	männl.	Dens-Fraktur	-	Alkoholabusus	GGT : 40U/l Lipase: 219U/l
9 S.P.	31	männl.	Schädelhalsfr. Radiusfraktur	10	Hypertonie	
10 B.H.	33	männl.	Comotio cerebri	-	Alkoholabusus	Bil.Ges: 1,4mg% GGT : 22U/l GPT : 58U/l GGT : 32U/l
11 M.H.	--	weibl.	Humerusfrakt. re.	9	-	-

6.3 Fibrin-Differenz-Methode mit Biuret

6.3.1 Verwendete Materialien und Geräte

- Zentrifuge AHT, Typ 5000 mit großen Einsätzen
- Brutschrank, 37°C
- Wasserbad 37°C
- Sarstedt-Monovetten für Gerinnungsuntersuchungen, 10 ml
- Reagenzgläser 15x100
- Reagenzgläser 10 ml, graduert
- Plastikspatel
- Eppendorf Photometer
- Eppendorf Kolbenhubpipette, 500 µl
- Meßpipetten
- Ratiolab-Mikroküvetten
- Natriumchloridlösung (0,9 g/100 ml)
- Kalziumchloridlösung (0,5 g/100 ml)
- n-Natronlauge
- Biuret-Reagenz
- Präciset-Eiweißlösung der Fa. Böhringer, Mannheim
- schwarzes Stofffilter

6.3.2 Prinzip und Durchführung

Nach Venenpunktion wird mit Monovetten Citratplasma einer Verdünnung von 1:10 gewonnen. Dies wird bei 1000 - 2000 Umdrehungen pro Minute 15 min. zentrifugiert, das Plasma abpipettiert, die korpuskulären Bestandteile verworfen.

Prüfansatz I: In ein sterilisiertes Reagenzglas werden 2,5 ml NaCl (0,9 %) pipettiert, dazu 0,5 ml Citratplas-

ma und 2,5 ml Calciumchloridlösung (0,5 %). Nun verschließt man das Reagenzglas mit einem Stopfen, inkubiert es für 60 Minuten in einem Brutschrank bei 37°C. Anschließend wird der Inhalt des Reagenzglases in ein schwarzes Stofffilter gegeben und mit 100 ml 0,9 %iger Natriumchloridlösung gewaschen. Es ist dabei darauf zu achten, daß das Gerinnsel frei in der Natriumchloridlösung schwimmt. Zum Schluß wird es mit einem Spatel leicht ausgedrückt, dann in ein graduiertes 10 ml Reagenzglas gegeben. Dem Gerinnsel wird bis zur 2 ml-Marke n Natronlauge zugesetzt, das Ganze bei 37°C im Wasserbad so lange inkubiert, bis das Gerinnsel vollständig gelöst ist. Nach Abkühlen der Lösung werden 4,00 ml Biuret-Reagenz dazupipettiert. Die Extinktion des Prüfansatzes I kann frühestens 30 min, spätestens 60 min nach Biuret-Zugabe in Küvetten einer Schichtdicke von 2 cm bei der Wellenlänge 546 nm gemessen werden.

Prüfansatz II: Prüfansatz II besteht wie Prüfansatz I aus 2,5 ml NaCl, 0,5 ml Citratplasma und 2,5 ml CaCl₂. Er wird allerdings nicht 1 Stunde, sondern 3 Stunden bei 37°C inkubiert, ansonsten aber genauso behandelt wie Prüfansatz I.

Prüfansatz III: Prüfansatz setzt sich genauso zusammen wie I und II, er wird jedoch 24 Stunden inkubiert.

Leeransatz: 2,0 ml n Natronlauge und 4,0 ml Biuret-Reagenz werden gemischt, die Extinktion der Lösung kann frühestens nach 30 min, spätestens nach 60 min bei einer Wellenlänge von 546 nm abgelesen werden.

Vergleichsansatz: 0,1 ml Präciset-Eiweißlösung (sie dient als Eiweiß-Vergleichslösung) werden in ein Reagenzglas pipettiert, das 1,9 ml n Natronlauge enthält,

dazu gibt man 4,0 ml Biuret-Reagenz. Nach Zugabe des Biuret-Reagenz kann die Extinktion wie oben gemessen werden.

Eichkurve: Aus Eiweiß-Vergleichslösung werden mit Natriumchloridlösung (0,9 g/100 ml) folgende Verdünnungen hergestellt:

- 1a) Verdünnung von 2 g/100 ml auf 200 mg/100 ml
- b) Verdünnung von 4 g/100 ml auf 400 mg/100 ml
- c) Verdünnung von 6 g/100 ml auf 600 mg/100 ml
- d) Verdünnung von 1a auf 100 mg/100 ml
- e) Verdünnung von 1c auf 300 mg/100 ml

6.3.3 Auswertung und Berechnung

Für die jeweiligen Verdünnungen ergaben sich folgende Extinktionswerte:

- 1a) 0,175
- b) 0,220
- c) 0,265
- d) 0,145
- e) 0,195

Daraus errechnen sich Fibrinogengehalt und prozentualer Fibrinverlust wie folgt:

$$\text{Prozentualer Fibrinverlust nach 23 h} = \frac{(F_1 - F_{24}) \cdot 100}{F_1}$$

F_1 = Fibrin-Gehalt des Prüfansatzes I, berechnet als Gramm Fibrinogen je 100 ml Plasma

F_{24} = Fibrin-Gehalt des Prüfansatzes II, berechnet als Gramm Fibrinogen je 100 ml Plasma.

F_1 bzw. F_{24} berechnen sich wie folgt:

Gramm Fibrinogen je 100 ml Plasma = $E' \cdot f$

E' = korrigierte Extinktion des jeweiligen Prüfansatzes

f = Eichfaktor, der errechnet wird aus den Verdünnungen der Vergleichsansätze und in unserem Falle bei einem Wert von 4,27 g Eiweiß je 100 ml Vergleichslösung lag.

Tabelle 13 : Fibrin-Differenz-Bestimmung mit Biuret
(Doppelbestimmungen)

a = 1 Std bebrütet
b = 3 Std bebrütet
c = 24 Std bebrütet

Lfd. Nr.	Name	Extinktionswerte der Plasmen Doppelbestimmungen durch Schrägstrich gekennzeichnet Leerwerte in Klammern		
		vor SP 54	3 Std nach SP 54	6 Std nach SP 54
1a	L.G.	0,240/0,250 (0,140)	0,260/0,250 (0,140)	0,240/0,250 (0,140)
1b		0,250/0,250 (0,140)	0,245/0,250 (0,135)	0,245/0,245 (0,135)
1c		0,235/0,235 (0,140)	0,245/0,250 (0,140)	0,235/0,240 (0,140)
2a	S.K.	0,230/0,235 (0,140)	0,225/0,220 (0,135)	0,220/0,215 (0,135)
2b		0,220/0,225 (0,140)	0,225/0,215 (0,135)	0,210/0,215 (0,135)
2c		0,210/0,215 (0,135)	0,205/0,215 (0,140)	0,215/0,210 (0,140)
3a	E.H.	0,180/0,180 (0,135)	0,195/0,190 (0,135)	0,180/0,185 (0,135)
3b		0,185/0,190 (0,135)	0,195/0,195 (0,135)	0,185/0,190 (0,140)
3c		0,155/0,150 (0,140)	gelöst	gelöst
4a	F.P.	0,225/0,220 (0,135)	0,220/0,210 (0,135)	0,220/0,220 (0,135)
4b		0,220/0,220 (0,135)	0,225/0,230 (0,140)	0,235/0,230 (0,135)
4c		0,195/0,190 (0,140)	gelöst	gelöst
5a	H.J.	0,230/0,225 (0,135)	0,240/0,250 (0,140)	0,230/0,235 (0,135)
5b		0,240/0,140 (0,140)	0,245/0,245 (0,140)	0,235/0,235 (0,135)
5c		0,240/0,245 (0,145)	0,245/0,245 (0,140)	0,240/0,240 (0,145)
6a	B.J.	0,250/0,250 (0,140)	0,240/0,240 (0,135)	0,245/0,250 (0,135)
6b		0,220/0,235 (0,135)	0,245/0,245 (0,135)	0,245/0,245 (0,135)
6c		0,230/0,235 (0,140)	0,245/0,250 (0,140)	0,260/0,260 (0,155)
7a	G.M.	0,240/0,240 (0,140)	0,230/0,240 (0,135)	0,225/0,130 (0,135)
7b		0,240/0,225 (0,135)	0,225/0,230 (0,135)	0,225/0,230 (0,135)
7c		0,235/0,225 (0,140)	0,260/0,260 (0,140)	0,265/0,265 (0,155)
8a	E.G.	0,235/0,240 (0,155)	0,230/0,230 (0,155)	0,230/0,230 (0,155)
8b		0,230/0,235 (0,145)	0,240/0,240 (0,145)	0,235/0,230 (0,155)
8c		0,215/0,225 (0,260)	0,210/0,230 (0,155)	0,210/0,230 (0,155)
9a	S.F.	0,245/0,240 (0,150)	0,230/0,230 (0,155)	0,235/0,240 (0,155)
9b		0,235/0,250 (0,155)	0,245/0,235 (0,145)	0,235/0,240 (0,155)
9c		0,220/0,225 (0,160)	0,245/0,245 (0,155)	0,190/0,200 (0,115)
10a	B.H.	0,230/0,230 (0,135)	0,240/0,250 (0,135)	0,230/0,230 (0,135)
10b		0,230/0,240 (0,135)	0,240/0,245 (0,135)	0,235/0,240 (0,140)
10c		0,240/0,260 (0,145)	0,245/0,270 (0,150)	0,230/0,230 (0,135)
11a	N.M.	0,285/0,280 (0,135)	0,280/0,290 (0,135)	0,280/0,280 (0,135)
11b		0,285/0,275 (0,135)	0,280/0,280 (0,135)	0,265/0,275 (0,150)
11c		0,265/0,265 (0,145)	0,285/0,275 (0,150)	gelöst

Tabelle 14: Fibrin-Differenz-Bestimmung mit Biuret

a = 1 Std bebrütet

b = 3 Std bebrütet

c =24 Std bebrütet

Lfd Nr.	Name	Korrigierte Extinktionen und Fibrinogenkonzentrationen in g/dl					
		1.Wert : mit Leerwert korrigierte Extinktionen					
		2.Wert : entspr.Fibrinogenkonzentrationen in g/dl (F =4,27)					
		vor SP 54		3 Std nach SP 54		6 Std nach SP 54	
1a	L.G.	0,105	△ 0,448	0,115	△ 0,491	0,107	△ 0,459
1b		0,110	△ 0,470	0,113	△ 0,482	0,110	△ 0,470
1c		0,093	△ 0,395	0,108	△ 0,461	0,098	△ 0,416
2a	S.K.	0,093	△ 0,395	0,088	△ 0,374	0,083	△ 0,352
2b		0,083	△ 0,352	0,085	△ 0,363	0,078	△ 0,331
2c		0,078	△ 0,331	0,070	△ 0,299	0,073	△ 0,310
3a	E.H.	0,045	△ 0,192	0,058	△ 0,246	0,048	△ 0,203
3b		0,053	△ 0,224	0,060	△ 0,256	0,048	△ 0,203
3c		0,013	△ 0,053	gelöst		gelöst	
4a	F.P.	0,088	△ 0,374	0,080	△ 0,342	0,085	△ 0,363
4b		0,085	△ 0,363	0,088	△ 0,374	0,093	△ 0,395
4c		0,053	△ 0,224	gelöst		gelöst	
5a	H.J.	0,093	△ 0,395	0,105	△ 0,448	0,097	△ 0,416
5b		0,100	△ 0,427	0,105	△ 0,448	0,097	△ 0,416
5c		0,103	△ 0,438	0,105	△ 0,448	0,095	△ 0,406
6a	B.J.	0,110	△ 0,470	0,105	△ 0,448	0,113	△ 0,480
6b		0,093	△ 0,395	0,110	△ 0,470	0,110	△ 0,470
6c		0,093	△ 0,395	0,108	△ 0,459	0,105	△ 0,448
7a	G.M.	0,100	△ 0,427	0,100	△ 0,427	0,093	△ 0,395
7b		0,098	△ 0,416	0,093	△ 0,395	0,093	△ 0,395
7c		0,090	△ 0,384	0,120	△ 0,512	0,110	△ 0,470
8a	E.G.	0,083	△ 0,352	0,075	△ 0,320	0,075	△ 0,320
8b		0,088	△ 0,374	0,095	△ 0,406	0,078	△ 0,331
8c		0,060	△ 0,256	0,065	△ 0,278	0,065	△ 0,278
9a	S.F.	0,093	△ 0,395	0,075	△ 0,320	0,083	△ 0,352
9b		0,088	△ 0,374	0,095	△ 0,406	0,083	△ 0,352
9c		0,063	△ 0,267	0,090	△ 0,384	0,080	△ 0,342
0a	B.H.	0,095	△ 0,406	0,110	△ 0,470	0,095	△ 0,406
0b		0,100	△ 0,427	0,108	△ 0,459	0,098	△ 0,416
0c		0,105	△ 0,448	0,108	△ 0,459	0,095	△ 0,406
1a	N.M.	0,148	△ 0,630	0,150	△ 0,641	0,150	△ 0,641
1b		0,145	△ 0,620	0,145	△ 0,620	0,120	△ 0,512
1c		0,120	△ 0,512	0,130	△ 0,555	gelöst	

Abbildung 3: Graphische Darstellung der Fibrinogenwerte

Fibrinogenkonzentration in g/100ml

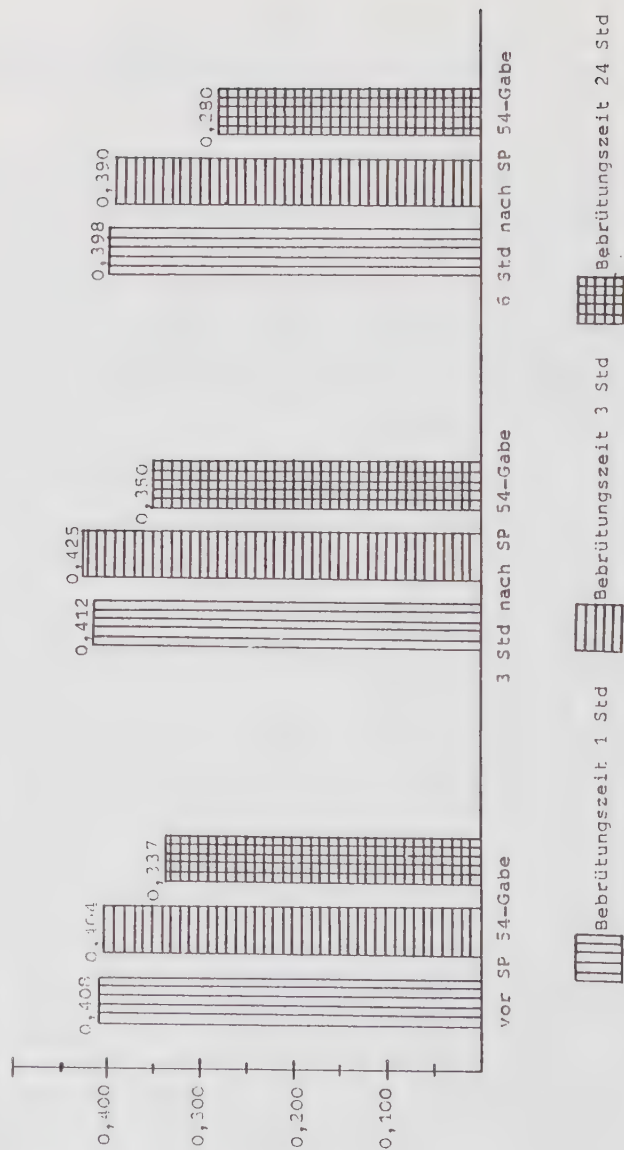


Tabelle 15 : Fibrin-Differenz-Bestimmung mit Biuret

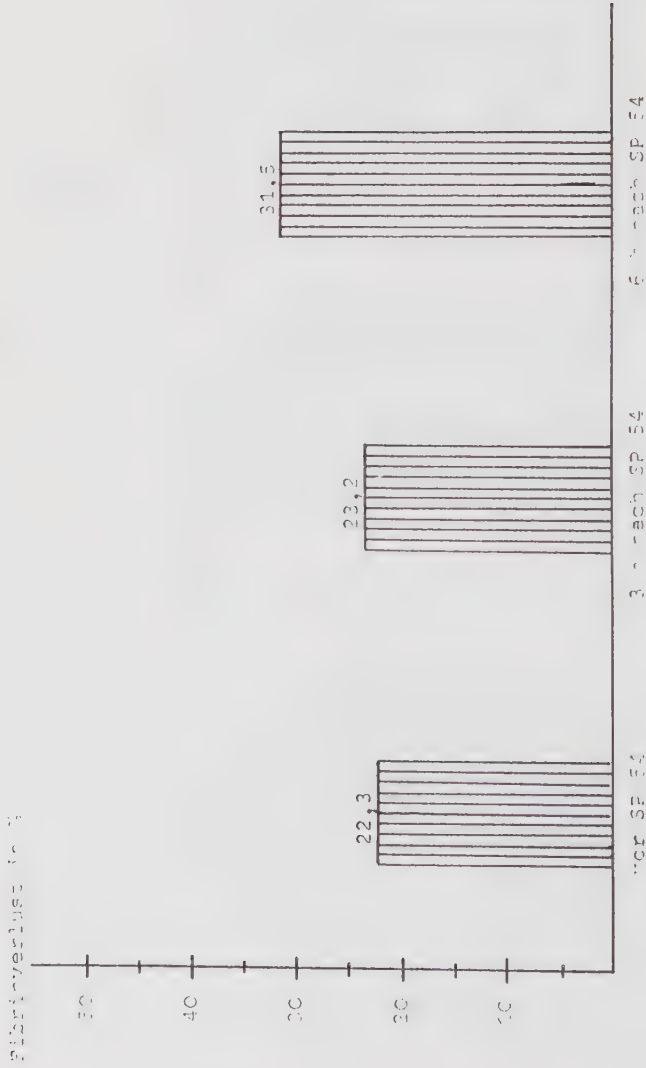
I = vor SP 54

II = 3 Std nach SP 54

III = 6 Std nach SP 54

Lfd.Nr.	Name	Fibrinverlust nach 24 Std Bebrütungsdauer, angegeben in Prozent		
		I	II	III
1	L.G.	11,8	6,1	9,4
2	S.K.	16,2	20,1	11,9
3	E.H.	72,4	100,0	100,0
4	F.P.	40,1	100,0	100,0
5	H.J.	-	-	2,4
6	B.J.	16,0	-	6,7
7	G.M.	10,1	-	-
8	E.G.	27,3	13,1	13,1
9	S.F.	32,4	-	2,8
10	B.H.	-	2,3	-
11	N.M.	18,7	13,4	100,0

Abbildung 4 : Durchschnitts- und Einzelwerte



6.4 Ergebnisse

Die Fibrin-Differenz-Methode mit Biuret wurde durchgeführt, um eine eventuell gesteigerte Fibrinolyse nach Gabe von SP 54 besser aufzeigen zu können.

Die Extinktionswerte der einzelnen Prüfansätze sind in Tabelle 13, die um den Leerwert korrigierten Extinktionen mit den dazugehörigen Fibrinogenkonzentrationen in Tabelle 14 dargestellt. Abbildung 3 zeigt die graphische Darstellung der Fibrinogenkonzentrationen, Abbildung 4 die graphische Darstellung der Fibrinverluste über 24 Stunden an.

Die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration vor Gabe von SP 54 ergab bei 6 Patienten ein Absinken der Konzentration sowohl nach 3 h als auch nach 24 h Inkubationszeit. Bei 3 Patienten stieg die Konzentration nach 3 h Bebrütungszeit im Vergleich zum 1stündigen Wert zunächst an, um später dann abzufallen. In 2 Fällen zeigte sich ein Anstieg sowohl nach 3 h als auch nach 6 h Inkubationszeit.

Wurde 3 h nach Gabe von SP 54 Blut entnommen, so zeigte sich eine zweimalige Abnahme der Konzentrationen bei 4 Patienten, bei 5 Patienten stieg die Konzentration zuerst an, fiel dann ab, in einem Fall blieb sie gleich und bei einem Patient konnte zunächst eine niedrigere Konzentration, im 24 h-Wert dann eine höhere festgestellt werden. Bei den Patienten 3 und 4 waren nach 24 h die Gerinnsel vollständig gelöst, also ein Fibrinverlust von 100 % zu verzeichnen.

6 h nach Gabe von SP 54 ergaben sich folgende Werte:
Bei 4 Patienten sank die Konzentration sowohl nach 3 h

als auch nach 24 h Bebrütungszeit ab, bei 2 Patienten blieb sie zuerst gleich, fiel dann ab, 4 Patienten hatten zunächst ein Ansteigen, dann ein Absinken der Konzentration zu verzeichnen und bei einem Patient blieb die Konzentration anfangs gleich, stieg aber nach 24 h an. Bei den Patienten 3 und 4 hatten sich auch hier die Gerinnsel vollständig gelöst, ebenso bei Patient Nr. 11.

Nur bei 2 von 11 Patienten war die Tendenz der Abnahme der Fibrinogenkonzentrationen bei allen Blutentnahmen gleichbleibend.

Nimmt man von allen Patienten die Werte zusammen, so zeigte sich, daß vor SP 54-Gabe und auch 6 h danach die Fibrinogenkonzentration sowohl nach 3 h als auch nach 24 h Bebrütungszeit bei 37°C absank, während 3 h nach SP 54-Gabe die Konzentration zunächst anstieg, um später dann abzufallen. Der Fibrinverlust nach 24stündiger Inkubationszeit lag 6 h nach Gabe von SP 54 mit 31,5 % am höchsten.

6.5 Diskussion

Die Fibrinogenkonzentrationen der einzelnen Patienten streuten intraindividuell sehr stark, dies machte sich besonders nach Gabe von SP 54 bemerkbar.

Wie bereits unter 5.1 erwähnt, ergaben verschiedene Untersuchungen in vitro und in vivo (46, 30, 15, 56), daß SP 54 die Fibrinolyse steigert, wenn auch über den genauen Mechanismus noch keine völlige Klarheit herrscht.

Vinazzer et al. (56) konnten feststellen, daß größte Fibrinverluste 120 min nach einer oralen Dosis von 500 mg

SP 54 bei einer Inkubationszeit von 45 min zu verzeichnen sind, während die Werte 6 Std. nach Sp 54-Gabe wieder ansteigen. Dazu im Widerspruch stehen unsere Ergebnisse, bei denen sich im Schnitt 3 Std. nach SP 54-Gabe ein leichter Anstieg und erst 6 h nach Applikation von SP 54 ein leichter Abfall der Fibrinogenkonzentration jeweils bei 1 h Inkubation zeigte.

Der Fibrinverlust bei einer Inkubationszeit von 24 h war 6 h nach SP 54-Gabe am stärksten, er lag um 8,3 % höher als der 3 Stunden-Wert. Diese Fibrindifferenz könnte auch mit der circadianen Rhythmik der Fibrinolyse zusammenhängen, die ja nach Harenberg (20) morgens zwischen 4.00 und 8.00 Uhr am niedrigsten ist, im Laufe des Vormittags kontinuierlich ansteigt und in der Zeit von 14.00 bis 22.00 Uhr in Form eines Plateaus am höchsten liegt. Bei unseren Untersuchungen erfolgte die dritte Blutentnahme jeweils um 14.00 Uhr, die zweite um 11.00 Uhr, deren Werte ebenfalls im Schnitt etwas höher lagen als um 8.00 Uhr morgens (siehe Abbildung 4).

Die Tatsache, daß die Fibrinogenkonzentrationen 3 h nach Gabe von SP 54 bei einer Inkubationszeit von 3 h durchschnittlich etwas höher lagen als die nach 1 h Inkubation, könnte sich daraus erklären, daß SP 54 über eine Anti Xa-Aktivität hemmend in die Gerinnung eingreift (55, 15) und daher nach einer Stunde die Gerinnung noch nicht vollständig abgeschlossen war.

Es ist jedoch die Frage, ob die teilweise doch sehr geringen Extinktionsdifferenzen als so maßgeblich betrachtet werden können und nicht auf eine Ungenauigkeit der Meßmethode zurückzuführen sind. Es wurde ja zum einen nicht die Fibrinogenkonzentration direkt bestimmt, son-

dern über die Gesamt-Eiweiß-Messung ermittelt, zum anderen ist es gut möglich, daß im Stofffilter unterschiedlich große Gerinnselreste zurückblieben und so nicht mitbestimmt werden konnten. Weiterhin müßte man bei späteren Untersuchungen sicher ein größeres Patientenkollektiv wählen, um genauere Aussagen über Fibrinverluste nach SP 54-Gabe machen zu können.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Ziel der Untersuchungen war es, herauszufinden, ob durch intermittierend sequentielle Kompression, low-dose Heparin-Prophylaxe die Kombination von beiden oder durch Medikation von polysulfatierten Anionen (SP 54) Veränderungen im Fibrinolysesystem hervorgerufen werden könne.

Es wurden dazu drei Patientenkollektive untersucht: Bei Gruppe 1 erfolgte die Anwendung der intermittierend sequentiellen Kompression, bei Gruppe 2 die Gabe von 3 x täglich 5000 IE Heparin s.C. und die intermittierend sequentielle Kompression, bei Gruppe 3 die Gabe von 2 x täglich 500 mg SP 54.

Alle drei Gruppen waren Patienten der chirurgischen Poliklinik München. Alle Patienten waren in gutem Allgemeinzustand und etwaige Operationen oder traumatische Ereignisse lagen länger als 5 Tage zurück.

Als Parameter untersuchten wir bei den beiden ersten Gruppen die Plasminogen-Konzentration und Euglobulinlysezeit jeweils vor und nach Kompression bzw. vor und nach Gabe von Heparin. Bei der dritten Gruppe bestimmten wir die Fibrin-Differenz nach Halse jeweils vor SP 54, 3 Stunden nach und 6 Stunden nach Gabe von SP 54.

Es zeigte sich bei Gruppe 1 eine geringe Verkürzung der Euglobulinlysezeit sowie ein geringer Plasminogen-Abfall. Die Werte waren jedoch insgesamt zu inhomogen, um mehr als eine Tendenz anzugeben.

In Gruppe 2 zeigt sich nach Gabe von Heparin kein Effekt, eine geringe Verkürzung der Euglobulinlysezeit konnte jedoch auch hier nach Kompression festgestellt werden.

Bei Gruppe 3 zeigte sich nur 6 Stunden nach Gabe von SP 54 bei einer Inkubationszeit von 24 Stunden ein Fibrinverlust. Doch auch hier konnte aufgrund der inhomogenen Ergebnisse nur eine Tendenz aufgezeigt werden.

Bei fast allen Patienten zeigten sich starke intraindividuelle Streuungen bei den durchgeführten Untersuchungen und es konnten in keinem Fall signifikante Änderungen der Fibrinolyseparameter ermittelt werden.

Daraus wäre zu folgern, daß die Kompression über einen längeren Zeitraum durchgeführt werden müßte, was jedoch in der Klinikroutine schwer realisierbar ist.

Alle Patienten empfanden die intermittierend-sequentielle Kompression als angenehm, nachteilige Wirkungen haben sich nicht gezeigt.

C. LITERATURVERZEICHNIS

- =====
1. AOKI, N.: Natural Inhibitors of Fibrinolysis. Progr. Cardiovasc. Dis., Vol. 21, Nr. 5, 267-285 (1979)
 2. ALBRECHTSEN, O.K.: The Fibrinolytic Activity of Human Tissues. Brit. J. Haemat. 3, 284 (1957)
 3. ASTRUP, T.: Fibrinolysis: An Overview. In: Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis, Vol. 3, ed. by J.F. Davidson, R.M. Rowan, M.M. Samama and P.C. Desnoyers, Raven Press, New York 1978
 4. ASTRUP, T.: Fibrinolysis in Organism. Blood 11, 781 (1956)
 5. BARLOW, G.H.: Pharmacology of Fibrinolytic Agents. Progr. in Cardiovasc. Dis., Vol. 21, Nr. 5, 312 (1979)
 6. BÜTTNER, D.; SCHMIDT, F.C.: Über die fibrinolytische Aktivität der Venenwand, VASA, Bd. 1, 24-28 (1972)
 7. CASH, J.P.: Physiological Aspects of Fibrinolysis. In: K.N.v. Kaulla, J.F. Davidson: Synthetic and Fibrinolytic Thromolytic Agents, Springfield, III 1975, p. 5
 8. CASTELLINO, F.J.: The Fibrinolytic System - Basic Considerations. Progr. Card. Dis. Vol. 21, Nr. 4, 241 (1979)
 9. CLARKE, ORANDI, CLIFFTON: Induction of Fibrinolysis by Venous Occlusion. J. of vasc. Diseases, Vol. 11, Nr. 5, 367-370 (1960)

10. COLLEN, D.; de COEK, F.; VERSTRAETE, M.: Immuno-logical Distinction between Antiplasmin and Q-Antitrypsin. Throm. Res. 7, 245 (1975)
11. CONARD, J.: Plasma Plasminogen Activator-Clot Lysis Assay Techniques. In: Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis, Vol. 2, ed by J.F. Davidson, M.M. Samama and P.C. Desnoyers, Raven Press, New York, 1976, pp. 15-23
12. DAVIDSON, J.F.; WALKER, I.D.: Synthetic Fibrinolytic Agents. Progr. in Cardiovasc. Dis., Vol. 21, Nr. 5, 375-396 (1979)
13. DEUTSCH, E.; FISCHER, M.: The Effect of Intravenously Administrated Streptokinase on Fibrinolysis and Blood Coagulation. Thromb. Diath. Haemorrh. 4, 183 (1960)
14. FANTL, P.; SIMON, S.E.: Aust. J. Exp. Biol. med., 26, 521 (1958)
15. FISCHER, A.M.; MERTON, R.E.; MARSH, N.A.; WILLIAMS, S.; GAFFREY, P.J.; BARROWCLIFFE, T.W.; THOMAS, D.P.: A Comparison of Pentosan Polysulfate and Heparin: Effects of Subcutaneous Injection. Thromb. Haemost. 47, Nr. 2, 109-113 (1982)
16. GESSENDORFER, A.: Eine experimentelle Untersuchung zur therapeutischen Fibrinolyseaktivierung. Inaugural-Dissertation München 1984
17. GOOSSENS, N.: Über die Fibrinolyseaktivierung in vitro und in vivo durch Nikotinsäure, Heparin und deren Mischungen. Med. Welt, Nr. 14, 889-903 (1967)
18. HALSE, Th.: Enzymologie der spontanen und therapeutisch induzierten Fibrinolyse. ViHoFe Band XI, Heft 1 (1960)

19. HALSE, Th.: Polyelektrolytes as Activators of Fibrinolysis and Thrombolysis. *Sangre* 9, 149 (1964)
20. HARENBERG, J.; WALTER, E.; WEBER, E.: Die intraindividuelle Streuung der fibrinolytischen Aktivität bei Probanden. *Klin. Wschr.* 56, 445-448 (1978)
21. HOLEMANNS, R.; ADAMS, D.; HORACE, H.F.: Interaction of Heparin with Fibrinolysis. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 9, 446-458 (1963)
22. IATRIDIS, S.G.; IATRIDIS, P.G.; FERGUSON, J.H.: The Role of Hageman-Factor in the Pathogenesis of the Thrombolytic State Induced by Venous Occlusion. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 16, 207 (1966)
23. JUNG, E.G.; DUCKERT, F.: Wirkung von Plasmin auf die Gerinnungsfaktoren. *Schweiz. med. Wschr.* 44, 1239-1241 (1960)
24. KALBHEN, D.A.: Biochemisch-pharmakologische Grundlagen zur antiphlogistisch-antirheumatischen Wirkung von Pentosan-Polyphosphat. *Wiener klin. Wschr.* 90, Nr. 3, 101 (1978)
25. KAULLA, K.N., VON; McDONALD, T.S.: The Effect of Heparin on Components of the Human Fibrinolytic System. *Blood* 13, 811-821 (1958)
26. KLÖCKING, H.P.; MARKWARDT, F.: The Influence of Heparin and Heparinoids on the Fibrinolytic System. 3rd Danube Symposium on Thrombosis and Haemostasis, Bratislava, CSSR, June 1-3, 1983
27. KNIGHT, M.T.N.; DAWSON, R.: Effect of Intermittent Compression of the Arms on Deep Venous Thrombosis in the Legs. *The Lancet*, 1265-12868 (1976)

28. KOLLER, F.: Fibrinolyse. Schweiz. med. Wschr. 44, 1231-1238 (1960)
29. LESUK, A.; TERMINIELLO, L.; TRAVER, J.H.: Biochemical and Physiological Studies of Human Urokinase. Thromb. Diath. Haemorrh. 18, 293 (1967)
30. MACGREGOR, J.; PEPPER, D.; DAWES, J.; PATEN, L.; PROWSE, C.; SMITH, M.: Catabolism of a Heparin-Analogue Sodium Pentosan-Polysulfat (SP 54) in Man. IX International Congress on Thrombosis and Haemostasis, Stockholm, July 3-8, 1983
31. MANNUCCI, P.M.: Progress in Fibrinolysis. La Ricerca Clin. Lab. 9, 223-233 (1979)
32. MARKWARDT, F.; KLÖCKING, H.P.: Heparin Induced Release of Plasminogen Activator. Haemostasis 6, 370-374 (1977)
33. MARDER, V.J.; SHULMAN, N.R.; CARROLL, W.R.: J. Biol. Chemistry 244, 2111 (1969)
34. MARDER, V.J.; BUDZYNSKI, A.Z.: Fibrinogen and Its Derivatives: Hereditary and Acquired Abnormalities. Schweiz. med. Wschr. 104, 1338 (1974)
35. MARSH, N.A.; GAFFREY, P.J.: The Effect of Pentosan Polysulfate (SP 54) on the Fibrinolytic System of Man. IX International Congress of Thrombosis and Haemostasis, Stockholm, July 3-8, 1983
36. MÜHE, E.: Ein neuer Weg in der Thromboseprophylaxe. Dtsch. med. Wschr. 28, 1092 (1982)
37. MÜLLERTZ, S.: The Fibrinolytic System. Scand. J. Haematol. (Supp) 34 (1979)

38. MURANO, G.: The "Hageman-Connection": Interrelationship of Blood Coagulation, Fibrinolysis, Kinin Generation and Complement Activation. *Am. J. Hem.* 4, 409 (1978)
39. NILSSON, I.M.; ROBERTSON, B.: Effect of Venous Occlusion on Coagulation and Fibrinolysis Components in Normal Subjects. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 20, 297 (1968)
40. OLSON, D.A.; KAMM, R.D.; SHAPIRO, A.H.: Experimentelle Studien über externe pneumatische Kompressionsverfahren am Modell des menschlichen Beines. Department of Mechanical Engineering Massachusetts, Institute of Technology Cambridge, Massachusetts
41. PSCHYREMBEL: Verlag Walter de Gruyter, 1977.
42. RAFF, M.; FANTA, D.: Herpes-zoster-Therapie mit Natrium-Pentosan Polysulfat. *Münch. med. Wschr.* 119, Nr. 23, 817-818 (1977)
43. ROBBINS, K.C.: The Human Plasma Fibrinolytic System: Regulation and Control. *Molek. and Cellular Biochemistry*, Vol. 20, Nr. 3, 149-154 (1978)
44. ROBERTSON, B.R.; PANDOLFI, M.; NILSSON, I.M.: Response of Local Fibrinolytic Activity to Venous Occlusion of Arms and Legs in Healthy Volunteers. *Acta Chir. Scand.* 138, 437-440 (1972)
45. SCHICK, L.A.; CASTELLINO, F.J.: Direct Evidence for the Generation of an Active Site in the Plasminogen - Moiety of the Streptokinase Human Plasminogen Activator Komplex. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 57, 47 (1974)

46. SCHNEIDER, J.; BIERBAUM, D.; MROSS, F.; KAPP-SCHWOERER, H.: Medikamentöse Thrombose- und Embolieprophylaxe mit SP 54 bei der Therapie gynäkologischer Karzinome mit Radium und Telekobaltbestrahlung. Med. Welt 18/23, 1446 (1967)
47. SCHWICK, H.G.; HEIMBURGER, N.: Biochemie der Fibrinolyse, in: Hiemayer, V., Therapeut. und exp. Fibrinolyse. F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1972
48. SHERRY, S.: Mechanism of Fibrinolysis
49. SHERRY, S.; FLETSCHER, A.P.; ALKJAERSIG, N.: Physiol. Rev. 39, 343 (1959)
50. SJÖRHOLM, I.; WIMAN, B.; WALLÉN, P.: Eur. J. Biochem. 39, 471 (1973)
51. STERMOKEN, H.: Interrelations between the Fibrinolytic- and the Kallikrein-Kinin-System. Scand. J. Haematol. (Suppl.) 34, 24 (1979)
52. The Natural Fibrinolysis and it's Stimulation. The Lancet, 1401 (1981)
53. TILLET, W.S.; GARNER, R.L.: The Fibrinolytic Activity of Haemolyt. Streptococci. J. exp. Med. 58, 485 (1933)
54. VERMYLLEN, J.G.; CHAMONE, D.A.: The Role of the Fibrinolytic System in Thrombolism. Progr. Cardiovasc. Dis. 21, 255 (1979)
55. VINAZZER, H.; HAAS, S.; STEMBERGER, A.: Influence on the Clotting Mechanism of Sodium Pentosan Polysulfate (SP 54) in Comparison to Commercial Beef Lung Sodium Heparin. Thromb. Res. 20, 57-67 (1980)

56. VINAZZER, H.; STEMBERGER, A.; HAAS, S.; BLUMEL, G.:
Influence of Heparin; of Different Heparin-
fractions and of a Low Molekular Weight Heparin-
like Substance on the Mechanism of Fibrinolysis.
IX International Congress on Thrombosis and
Haemostasis, Stockholm, July 3-8, 1983
57. WALLEN, W.: On the Generation of Intermediate Plas-
minogen and it's Significance for the Activation.
In: REICH, E.; RIFKIND, D.B.; SHAW, E.: Protea-
ses and Biological Control. Cold-Spring-Harbour-
Laboratory New York, 1975, p. 231
58. WITT, I.: Biochemie der Blutgerinnung und Fibrin-
olyse. Verlag Chemie Weinheim, 1975, 103-120
59. ARNMAN, R.; GYZANDER, E.; HEDNER, U.; OLSON, R.;
TEGER-NILSSON, A.C.: Inhibitors to Fibrinolysis
in Liver Diseases. Hepat. Gastroenterolgy 27,
254 (1980)
60. SANDERS-WILLIAMS, R.; LOQUE, E.E.; LEWIS, J.L.;
BARTON, T.; STEAD, N.W.; WALLACE, A.G.; PIZZO,
S.W.: Physical Conditioning Augments the Fibrin-
olytic Response to Venous Occlusion in Healthy
Adults. N. Engl. J. Med. 18 (1980)
61. ALLENBY, F.; PFLUG, J.J.; BOARDMAN, L.; CALMAN, J.S.:
Effects of external pneumatic intermittent com-
pression on Fibrinolysis in man. The Lancet
1412-1415 (1979)

DANKVERMERK

=====

Herrn Prof. Dr. Goossens danke ich für die Überlassung des Themas, sowie Herrn Dr. Rath für die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Ferner möchte ich meinen Dank an die Damen des Gerinnungslabors der Poliklinik, Frau Sturm und Frau Stiehler, richten.

Weiterhin danke ich Frau U. Schmid für ihre Mithilfe bei den laborchemischen Untersuchungen.

LEBENS LAUF

Name	Ulrike W ö b b e k i n g
20. Juni 1956	Geburt in Kassel als erstes von zwei Kindern Vater: Dr. Werner Wöbbeking, Arzt für Innere Krankheiten Mutter: Martha Wöbbeking, geb. Köthe
1962 - 1966	Besuch der Burgsitzschule Spangenberg
1966 - 1975	Besuch des Geschwister-Scholl-Gymnasiums Melsungen
1975 - 1977	Besuch der MTA-Schule der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
1977 - 1978	MTA an der Orthopädischen Universitätsklinik Münster
November 1978	Beginn des Medizinstudiums in München
August 1980	Ärztliche Vorprüfung
August 1981	I. Teil der Ärztlichen Prüfung
März 1984	II. Teil der Ärztlichen Prüfung
April 1985	III. Teil der Ärztlichen Prüfung (schriftl. Teil)
Mai 1985	III. Teil der Ärztlichen Prüfung (mündl. Teil)

